



Internationales Büro

(51) Internationale Patentklassifikation 5 :

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 93/10768

**(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum:**

10. Juni 1993 (10.06.93)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE92/01010

(22) Internationales Anmeldedatum: 4. Dezember 1992 (04.12.92)

(30) Prioritätsdaten:

P 41 40 195.6	5. Dezember 1991 (05.12.91)	DE
P 41 40 177.8	5. Dezember 1991 (05.12.91)	DE
P 41 40 178.6	5. Dezember 1991 (05.12.91)	DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): ALFA-TEC-PHARMA GMBH [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 519, D-6900 Heidelberg (DE).

(72) Erfinder: und

(75) **Erfinder/Anmelder (nur für US)** : WUNDERLICH, Jens-Christian [DE/DE]; Bothestrasse 52, D-6900 Heidelberg (DE). SCHICK, Ursula [DE/DE]; Staatsbahnhofstrasse 6, D-6908 Wiesloch (DE). WERRY, Jürgen [DE/DE]; Weimarer Strasse 20, D-6700 Ludwigshafen (DE). FREIDENREICH, Jürgen [DE/DE]; Huberweg 26, D-6905 Schriesheim (DE).

(74) Anwalt: KUHLEN, WACKER & PARTNER; Alois-Steinacker-Str. 22, Postfach 15 53, D-8050 Freising (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

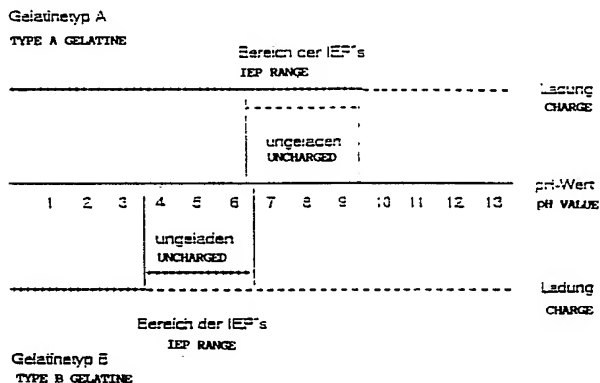
Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: PHARMACEUTICALLY APPLICABLE NANOSOL AND PROCESS FOR PREPARING THE SAME

(54) Bezeichnung: PHARMAZEUTISCH APPLIZIERBARES NANOSOL UND VERFAHREN ZU SEINER HERSTELLUNG



Ladungsverteilungen in den Gelatintypen A (sauer) und B (alkalisch)

IEP = isoelektrischer Punkt

CHARGE DISTRIBUTION IN TYPE A (ACID) AND TYPE B (ALKALINE) GELATINES
IEP = ISOELECTRIC POINT

(57) Abstract

Nanosols and process for preparing the same allow colloiddally dispersed solutions of scarcely water-soluble active substances to be stabilised with gelatine or its derivatives, by partly or fully setting the iso-ionic point (IIP, equivalent to a neutral charge) between the gelatine and the surface charged active substance particles. In order to neutralise the charge of the system composed of active substance particles and gelatine, the surface charge of the particles is compensated by a corresponding opposite charge of the gelatine molecules. For that purpose, a determined charge in relation to the isoelectric point (IEP) and the pH value of the solution is set on the gelatine molecules. By stabilising in this way the practically monodispersed state thus generated, the Ostwald maturation of the colloidal particles of scarcely soluble active substance is strongly reduced. A new form of pharmaceutical administration having new properties can thus be obtained with generally scarcely water-soluble anorganic and organic compounds, in particular medicaments with a problematic bioavailability. Preferred medicaments are glibenclamide and 3-indolylacetic acid derivatives, such as indometacin or acemetacin.

(57) Zusammenfassung Es werden Nanosole und Verfahren zu ihrer Herstellung beschrieben, die es ermöglichen, kolloid-disperse Lösungen von in Wasser schwer löslichen Wirkstoffen durch Gelatine oder ihre Derivate zu stabilisieren, indem man den isoionischen Punkt (IIP, gleich Ladungsausgleich) zwischen Gelatine und den auf der Oberfläche geladenen Wirkstoffpartikeln annähernd oder vollständig einstellt. Dabei bringt man das System Wirkstoffpartikel/Gelatine dadurch zum Ladungsausgleich, daß die Oberflächenladung der Partikel durch entsprechende Gegenladung der Gelatinemoleküle kompensiert wird. Erreicht wird dies durch Einstellung einer bestimmten Ladung auf den Gelatinemolekülen, die in Abhängigkeit zu ihrem isoelektrischen Punkt (IEP) und dem pH-Wert der Lösung steht. Durch eine solche Stabilisierung des erzeugten nahezu monodispersen Zustands wird die Ostwald-Reifung der kolloiden Partikel des schwerlöslichen Wirkstoffs stark vermindert. So lassen sich ganz allgemein in Wasser schwerlösliche anorganische und organische Verbindungen, insbesondere Arzneistoffe mit problematischer Bioverfügbarkeit in eine pharmazeutisch applizierbare Form mit neuen Eigenschaften bringen. Bevorzugte Arzneistoffe sind Glibenclamid und 3-Indolylessigsäurederivate, z.B. Indometacin oder Acemetacin.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
AU	Australien	GA	Gabon	MW	Malawi
BB	Barbados	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BE	Belgien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NZ	Neuseeland
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	PL	Polen
BJ	Benin	IE	Irland	PT	Portugal
BR	Brasilien	IT	Italien	RO	Rumänien
CA	Kanada	JP	Japan	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SD	Sudan
CG	Kongo	KR	Republik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KZ	Kasachstan	SK	Slowakische Republik
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	SU	Soviet Union
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TD	Tschad
CZ	Tschechische Republik	MC	Monaco	TG	Togo
DE	Deutschland	MG	Madagaskar	UA	Ukraine
DK	Dänemark	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
ES	Spanien	MN	Mongolei	VN	Vietnam
FI	Finnland				

Pharmazeutisch applizierbares Nanosol
und Verfahren zu seiner Her-
stellung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines kolloid-dispersen Systems von in Wasser schwerlöslichen Arzneistoffen gemäß Patentanspruch 1 bzw. von in Wasser schwer löslichen anorganischen und/oder organischen Verbindungen nach Anspruch 56. Sie betrifft weiterhin ein pharmazeutisch applizierbares Nanosol, d. h. ein stabiles kolloid-disperses System von in Wasser schwerlöslichen Arzneistoffen mit Gelatine gemäß Anspruch 25. Weiterhin betrifft sie ein Akut-Arzneimittel zur Behandlung von rheumatischen und/oder entzündlichen Erkrankungen, das ein 3-Indolylessigsäurederivat enthält. Schließlich betrifft sie ein Akut-Arzneimittel zur Behandlung von Diabetes, das Glibenclamid enthält.

Die Schwierigkeit, Arzneistoffe mit problematischer Bioverfügbarkeit in eine befriedigende pharmazeutisch applizierbare Form zu bringen, ist allgemein bekannt. Etwa 30 % aller Wirkstoffe in Arzneimitteln fallen unter diese Gruppe. Für sie muß i. a. eine schnelle Freigabe des Wirkstoffs aus seiner Zubereitung nach der Applikation, d. h. eine schnelle Überführung in die gelöste, resorptionsfähige Form, gefordert werden, um einen akzeptablen Therapieerfolg zu erzielen. Setzt man voraus, daß der Resorptionsprozeß in vivo nicht der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist, lassen sich alle technologischen Verfahren zur Arzneistoff-Freigabeverbesserung auf die Beeinflussung zweier Parameter in der sogenannten Noyes-Whitney-Gleichung zurückführen:

35
$$\frac{dc}{dt} = \frac{D \cdot A}{d \cdot V} (c_s - c_t),$$

wobei

	dc		in Lösung gehende Feststoffmenge pro Zeit
5	--	:	= Lösungsgeschwindigkeit,
	dt		
	D	:	Diffusionskoeffizient des betreffenden
			Stoffmoleküls
	A	:	effektive Feststoff- bzw. Kristalloberfläche,
10			die dem Lösemittel zugänglich ist (benetzbare
			Oberfläche),
	d	:	Dicke der Diffusionsschicht
	V	:	Lösungsmittelvolumen,
	c_s	:	Sättigungslöslichkeit des betreffenden Stoffs
			und
15	c_t	:	in Lösung herrschende Konzentration des
			betreffenden Stoffs zur Zeit t

bedeuten. Diese Gleichung gibt einen mathematischen Ausdruck für die Lösegeschwindigkeit von Substanzen allgemein (hier
 20 Arzneistoffen) an. Dabei sind die für den Pharmazeuten änderbaren Zielgrößen einzig die Sättigungskonzentration (Sättigungslöslichkeit) des Arzneistoffes sowie die effektiv durch das Lösungsmittel angreifbare Stoffoberfläche. Eine
 25 Vergrößerung dieser beiden Parameter sollte auch eine Erhöhung der Lösegeschwindigkeit zur Folge haben.

Klassische Verfahren zur Erhöhung der Sättigungslöslichkeit von Arzneistoffen sind z. B.:

- 30 a) die Zugabe von mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmitteln, bzw.
- b) der Einsatz von hydrotropen Stoffen.

Diese Maßnahmen haben aber den Nachteil, daß sie zum einen
 35 den Organismus mit toxikologisch bedenklichen Stoffen belasten, zum anderen kann eine erhöhte Löslichkeit in vivo durch die Rekristallisationsvorgänge zunichte gemacht werden. Oft reicht außerdem die anzuwendende Menge nicht aus, um eine erforderliche Arzneistoffdosis in Lösung zu bringen.

Daher wurde in neuerer Zeit die Solubilisierung von Arzneistoffen durch grenzflächenaktive, mizellbildende Substanzen bzw. die Bildung von Cyclodextrin-Einschlußverbindungen beschrieben. Beide Anwendungen besitzen aber den wesentlichen
5 Nachteil, daß primär gelöster Arzneistoff im Organismus tatsächlich nicht frei vorliegt, sondern aus seinem Komplex mit dem Hilfsstoff freigesetzt werden muß. D. h. insgesamt wird die Arzneistoff-Freigabe so eher verschlechtert als verbessert. Abgesehen davon sind Nebenwirkungen durch grenz-
10 flächenaktive Substanzen nicht auszuschließen.

Eine Oberflächenvergrößerung von Arzneistoffen ist durch Mikronisation möglich. Diese Verarbeitung ist jedoch sehr schwierig und aufwendig und hat ihre Grenze bei einer Partikelgröße von $\geq 1 \mu\text{m}$. Je kleiner die Pulverpartikel jedoch
15 sind, desto stärker neigen sie zur Aerophilie und der Benetzungsgrad bei Kontakt mit Lösungsmitteln (effektive Oberfläche A) wird gering - die Lösegeschwindigkeit wird eher herabgesetzt. Daher wird fast immer der Zusatz von hydrophilen Trägerstoffen notwendig.
20

Weitere bekannte Verfahren zur Herstellung kleiner Partikel sind z. B., die folgenden:

25 Violanto (US-A-4,826,689) beschreibt eine Methode zur Herstellung von kolloid verteilten Partikeln von wasserunlöslichen organischen Verbindungen. Dabei sind aufwendige Testversuche notwendig, um optimale Werte für die Parameter Temperatur, Rührgeschwindigkeit und Zugabegeschwindigkeit der
30 wäßrigen Präzipitationsflüssigkeit zur Lösung der festen Verbindung im organischen Lösungsmittel zu ermitteln. Denn nur die Einhaltung dieser Vorbedingungen sichert die Bildung der beschriebenen Partikel. Eine nachfolgende Trennoperation soll die Partikel von der organischen Flüssigkeit befreien.
35 Stabilisierungsmaßnahmen erfordern unter Umständen eine recht zeit- und kostenaufwendige Zetapotentialmessung, nach

der sich ein Zusatz von viskositätserhöhenden Stoffen bzw. Tensiden zur wäßrigen Präzipitationsflüssigkeit bemißt, der die Partikelaggregation verhindern soll.

5 Fessi (EP-A-0 275 796) beschreibt die Herstellung eines ebenfalls fein verteilten Systems mit Arzneistoffen, das jedoch ein definiertes Polymer als Trägersubstanz benötigt. Polymer und Arzneistoff werden in einem Lösungsmittel gelöst und mit einem Nichtlösungsmittel wird präzipitiert. Nach-
10 trächlich müssen Schritte zur Abtrennung der Nanopartikel, z. B. durch Filtration oder Zentrifugation durchgeführt werden. Bei der Herstellung ist außerdem ein Stabilisatorzusatz (Tenside oder ähnliche Träger) notwendig, um die Partikelaggregation zu minimieren.

15 Bei den obigen Verfahren sind immer komplexe Zusatzstoffe notwendig, deren Einsatz weder gezielt vorherbestimmt werden kann, noch aus den eingangs erwähnten Gründen (toxikologische Risiken) wünschenswert ist. Daher ist eine einfache
20 Herstellung von stabilen Nanosolen mit möglichst wenig Fremdzusätzen entscheidend für pharmazeutisch relevante Anwendungen.

J.J. Marty et al., Pharm. Acta Helv. 53, 1 (1978) S. 17-23
25 beschreibt die Herstellung von Gelatine-Nanopartikeln, in die auch Wirkstoffe eingeschlossen werden können. Bei der Herstellung dieser Gelatine-Nanopartikel wird zur Desolvatation und Resolvatation eine pH-Justierung vorgesehen. Eine Überführung des Arzneimittels in Nanopartikel wird nicht offenbart.
30

Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, die Bioverfügbarkeit von in Wasser schwer löslichen Arzneistoffen, durch Erhöhung ihrer Lösegeschwindigkeit ohne Zusatz von schädlichen Hilfsstoffen zu verbessern. Diese Auf-
35

gabe wird durch das Verfahren gemäß den Ansprüchen 1 sowie durch das Nanosol gemäß dem Anspruch 25 gelöst.

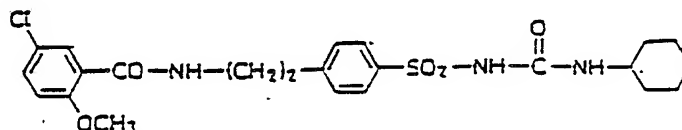
5 Gegenstand der Erfindung sind somit auch das Nanosol gemäß Anspruch 25 zur Verwendung bei der Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung mit verbesserter Bioverfügbarkeit, welche dieses Nanosol als Wirkkomponente enthält, sowie die betreffenden Akut-Arzneimittel gemäß Anspruch 40 bis 52.

10 Gegenstand der Erfindung sind weiterhin pharmazeutische Zubereitungen zur Verwendung bei der Behandlung von Krankheiten z. B. Herz- Kreislauferkrankungen, Rheuma oder Gicht, Diabetes, usw. wenn sie einen Arzneistoff, z. B. Nifedipin, Indometacin, Glibenclamid usw. in Form von Nanopartikeln in
15 einem stabilen kolloid-dispersen System mit Gelatine enthalten.

80% aller Diabetiker leiden unter dem Typ II-Diabetes, verursacht durch eine verminderte Produktion von Insulin. Zur
20 Behandlung dieses Typs haben sich Sulfonylharnstoffe, wie z.B. Tolbutamid, als besonders wirksam erwiesen. Weitergehende Forschungstätigkeiten führten zu den sogenannten oralen Antidiabetica der 2. Generation, wie z.B. Glibenclamid, das in seiner blutzuckersenkenden Wirkung beim Menschen das
25 Tolbutamid 300mal übertrifft.

Glibenclamid, 1-{4-[2-(5-Chlor-2-methoxybenzamido)-ethyl]-phenylsulfonyl}-3-cyclohexylharnstoff, $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, der Formel:

30



35

hat sich auf dem Markt weitgehend durchgesetzt. Wie vergleichende in-vivo-Studien belegen, können keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Bioverfügbarkeitsgröße Serumspegelfläche (AUC = area under curve) gefunden werden. 5 Gravierende Unterschiede bestehen dagegen jedoch bei den pharmakokinetischen Parametern c_{\max} (Maximaler Blutspiegelwert) und t_{\max} (der Zeitpunkt, bei dem der maximale Blutspiegelwert erreicht ist). Bei vielen Präparaten kann ein verzögerter Wirkeintritt und eine geringere maximale Blutspiegelkonzentration im Vergleich zu einem Referenzpräparat 10 festgestellt werden. Gerade aber eine schnelle Anflutung des Glibenclamids ist erwünscht. Die akute blutzuckersenkende Wirkung von Glibenclamid ist umso effektiver, je rascher der Wirkstoff im Vergleich zu den Kohlenhydraten systemisch verfügbar ist. Dies hat eine effektive Verminderung und Verkürzung des nahrungsbedingten Anstiegs der Blutglucosewerte zur Folge. 15

Eine verzögerte Wirkung bei einer Akutformulierung für Glibenclamid kann zwei Ursachen haben: 20

- (1) Die Zubereitung zerfällt nicht schnell genug, so daß der Wirkstoff verzögert freigesetzt wird.
- 25 (2) Der Wirkstoff wird im Anschluß an die Freigabe verzögert resorbiert.

Vergleichende in-vitro-Freisetzungsprüfungen zeigen deutliche Unterschiede hinsichtlich der Tablettenzerfallszeiten 30 auf. Einige Tabletten verschiedener Hersteller setzen verzögert frei, beispielsweise werden nach 30 Minuten bei pH 7,4 nur zwischen 50% und 75% des Wirkstoffes freigesetzt. Eine so langsame Freisetzung birgt verschiedene Gefahren in sich, denn dies kann zu Stoffwechselentgleisungen bei Patienten 35 führen, zumal vor allem am frühen Vormittag der Blutglucosewert bekanntermaßen am höchsten ist.

Die zweite Ursache für die mangelnde biopharmazeutische Qualität eines Glibenclamid-Präparats liegt darin begründet, daß der Wirkstoff im Gastrointestinaltrakt, vor allem während der Magenpassage, aufgrund seiner pH-abhängigen Schwerlöslichkeit nicht oder nur vermindert resorbiert wird. Nach der Theorie des passiven Transports können nur Wirkstoffmoleküle resorbiert werden, die gelöst und undissoziiert vorliegen. So beträgt die Löslichkeit von Glibenclamid bei einem pH-Wert von 1,3 1 mg/l, bei pH 6,0 3 mg/l und bei pH 7,8 ca. 30 mg/l (Die Angaben gelten für Raumtemperatur in wäßrigem Milieu). Wie eine Untersuchung an verschiedenen Resorptionsorten im Gastrointestinaltrakt zeigt, erfolgt bei Gabe einer aufgelösten Glibenclamid-Tablette die Resorption am schnellsten im Duodenum.

Nach allgemeiner pharmazeutischer Kenntnis kann die Löslichkeit von Wirkstoffen selbst durch den Einsatz von Tensiden erhöht werden, was aber den entscheidenden Nachteil hat, daß primär gelöster Wirkstoff im Organismus tatsächlich nicht frei vorliegt, sondern aus seinem Komplex (Micelle etc.) freigesetzt werden muß. Dies hat wiederum eine verzögernde Bereitstellung des Wirkstoffs zur Folge. Außerdem steigt das Risiko der Bildung grobkristalliner Anteile durch Rekristallisation. Und darüberhinaus ist der Einsatz von Tensiden aufgrund der bekannten Nebenwirkungen und möglichen Toxizität umstritten.

Wie oben bereits erwähnt, ist die Wasserlöslichkeit von Glibenclamid pH-abhängig. Das bedeutet, daß der Übergang des Wirkstoffs in die resorptionsfähige Form (gelöst und undissoziiert) vom umgebenden pH-Milieu des Gastrointestinaltrakts (GIT) abhängt. Dieser Aspekt ist in zweierlei Hinsicht erwähnenswert. Physiologische pH-Werte, z.B. die der Magenflüssigkeit, können sich einmal von Patient zu Patient unterscheiden. Aber auch individuell kann sich beispiels-

weise durch Nahrungsaufnahme (leichtes Frühstück, schweres Essen) der pH-Wert der Magenflüssigkeit verändern. Solche inter- und intraindividuellen pH-Wert-Schwankungen führen zu einer unterschiedlichen Bereitstellung von resorptionsfähigen Anteilen und damit zu unterschiedlichen Blutspiegeln. Damit wird der Wirkeintritt, gekennzeichnet durch eine Insulinausschüttung, verbunden mit einem Abbau der Blutglucose, zeitlich (und mengenmäßig) unkalkulierbar, was zu hypo- und hyperglykämischen Stoffwechselzuständen führen kann. Allen handelsüblichen Glibenclamid-Zubereitungen gemeinsam ist, daß sie aufgrund der pH-abhängigen Schwerlöslichkeit des Wirkstoffs von solchen individuellen Unterschieden abhängig sind.

Die Erfindung betrifft weiterhin ein solches Arzneimittel, das 3-Indolylessigsäurederivate, besonders Indometacin oder Acemetacin als Akutform enthält. Schließlich betrifft die Erfindung die Verwendung eines pharmazeutisch applizierbaren Nanosols von 3-Indolylessigsäurederivaten, besonders Indometacin oder Acemetacin, zur Herstellung von Arzneimitteln mit akuter analgetischer und/oder antirheumatischer Wirkung.

Trotz vielfältiger galenischer Entwicklungen peroraler, schnell anflutender Akutzubereitungen ist es bis heute bei handelsüblichen Arzneimitteln, die 3-Indolylessigsäurederivate, besonders Indometacin oder Acemetacin enthalten, noch nicht gelungen, den arzneiformspezifischen Parameter der Wirkstofffreigabe mit anschließender Wirkstoffresorption so optimal an die physiologischen Gegebenheiten (pH-Verhältnisse im Gastrointestinaltrakt, gastrointestinale Verweilzeit von Formlingen, spezifische Resorptionsfenster für bestimmte Wirkstoffe) anzupassen, daß die Hauptanforderung an eine Akutarzneiform erfüllt wird:

Verkürzte Zeit bis zum Auftreten des Plasmaspiegelmaximalwerts (t_{\max}), z. B. 1 h und weniger

- und als Voraussetzung dafür möglichst schnelle Resorption des Wirkstoffs nach Freisetzung aus der Arzneiform.

5 Diese Forderung soll eine hohe therapeutische Effizienz bewirken und damit die Patienten-Compliance entscheidend erhöhen.

10 Das mittlerweile schon fast als klassisches, nichtsteroidales Antiphlogistikum zu bezeichnende Indometacin, (1-(4-Chlorbenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-3-indolyl)essigsäure, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, stellt eine wirksame entzündungshemmende Substanz dar, die besonders in der Therapie des akuten Rheuma- und Gichtanfalls eine wichtige Rolle spielt. Andere Krankheitsbilder, bei denen die Behandlung mit Indometacin indi-
15 ziert ist, sind z.B. rheumatoide Arthritis, Spondylitis ankylosans oder Osteoarthritis. Hierfür sind Indometacin-Zubereitungen mit 25 mg und 50 mg Wirkstoffgehalt handelsüblich.

20 Acemetacin, (1-(4-Chlorbenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-3-indolyl)essigsäurecarboxymethylester, $C_{21}H_{18}ClNO_6$, stellt einen Ester des Indometacins dar, der im Stoffwechsel größtenteils zu Indometacin metabolisiert wird. Sein Wirkprofil entspricht weitgehend dem des Indometacins. Ein wesentlicher Unterschied soll jedoch in der besseren Verträglichkeit bestehen, da Acemetacin im Gegensatz zu Indometacin nur
25 schwach ausgeprägte ulcerogene Eigenschaften besitzen soll.

30 Das Problem, das man bei der Entwicklung schnell anflutender Akutzubereitungen mit den besagten Wirkstoffen zu überwinden hat, stellt sich folgendermaßen dar, wie am Beispiel des Indometacins deutlich gemacht wird:

35 Indometacin ist eine praktisch wasserunlösliche Wirkstoff-säure mit einem pK_A -Wert von 4,5 . Da im allgemeinen nur Stoffe, die im Organismus gelöst und undissoziiert vorliegen, resorbiert werden, ist für Indometacin keine nennens-

werte Resorption im sauren Magen-Milieu (pH 1) zu erwarten. Erst im Verlauf der weiteren gastrointestinalen Passage (pH-Erhö-
hung im Duodenum) löst sich genügend Wirkstoff, so daß die Resorption in Gang kommt. Dementsprechend treten bei
5 handelsüblichen Indometacin-Akutarzneiformen maximale Plasmaspiegel erst nach ca. 1-3 h auf (t_{\max}). Diese Werte sind mit Vorbehalt zu betrachten, denn aufgrund starker inter- und intraindividuelle Schwankungen bei der Magenverweilzeit peroraler, nicht retardierter Zubereitungen (z.B. wegen Art
10 und Menge der aufgenommenen Nahrung) gelangt eine Indometacin-Wirkstoff-Dosis nicht immer zur vorherbestimmbaren Zeit in obigen Resorptionsbereich (sog. Resorptionsfenster). Indometacin stellt also einen solchen Wirkstoff dar, bei dem die Resorptionskinetik stets in Bezug zur gastrointestinalen
15 Verweilzeit der Zubereitung gesetzt werden muß.

Daher sind als Zubereitungen vorwiegend in Hartgelatinekap-
seln abgefüllte Pellets oder Granulate im Handel, weil diese
20 aufgrund ihres geringen Durchmessers (i.a. 1-1,5 mm) noch relativ schnell den Magen passieren können. In Abhängigkeit von Art und Menge der aufgenommenen Nahrung, Füllungszustand des Magens etc. liegen durchschnittliche Verweilzeiten bei
ca. 100 min, können aber auch auf z.B. bis zu 300 min ansteigen.

25 In Kenntnis dieser Fakten wird es leicht verständlich, daß ein unter Schmerzen leidender Patient noch vor dem Wirkeintritt der ersten Dosis eine zweite oder dritte Dosis einnimmt. Damit steigt natürlich die Gefahr einer Überdosierung
30 an.

Gelatine ist ein aus kollagenhaltigem Material gewonnenes Skleroprotein, das je nach Herstellungsprozeß unterschiedliche Eigenschaften hat. Sie besteht im wesentlichen aus vier
35 Molekulargewichtsfractionen, die die physikalisch-chemischen Eigenschaften in Abhängigkeit vom Molekulargewicht und

prozentualem Gewichtsanteil beeinflussen. Je höher z.B. der Anteil Mikrogel (10^7 bis 10^8 D) liegt, desto höher ist auch die Viskosität der wäßrigen Lösung. Handelsübliche Sorten enthalten bis zu 15 Gewichtsprozent. Die Fraktion der α -Gelatine und deren Oligomere ($9,5 \times 10^4 / 10^5$ bis 10^6 D) sind entscheidend für die Gelfestigkeit und liegen üblicherweise zwischen 10 und 40 Gewichtsprozent. Molekulargewichte unterhalb der α -Gelatine werden als Peptide bezeichnet und können in herkömmlichen Gelatinequalitäten (niedrigbloomig) bis zu 80 Gewichtsprozent betragen.

Je nach Aufarbeitung des Rohmaterials (saurer oder basischer Aufschluß) erhält man Gelatinen, deren isoelektrische Punkte unterschiedlich sind. Für sauer aufgeschlossene Gelatinen liegt der IEP zwischen 6,3 und 9,5 (Gelatine Typ A), für basisch aufgeschlossene Gelatinen zwischen 3,5 und 6,5 (Gelatine Typ B). Durch die unten angegebenen, speziellen Herstellungsverfahren können auch andere IEP's erzielt werden. Allen Gelatinearten gemeinsam ist jedoch ihr amphoterer Verhalten in wäßrigem Milieu. Bei pH-Werten, die nicht mit dem IEP identisch sind, liegt das Makromolekül immer geladen vor.

In Abhängigkeit von der Herstellungsweise von Gelatine (Ausmaß des Abbaus des nativen Kollagens und saures bzw. alkalisches Aufschlußverfahren) weist Gelatine vom Typ A oder Typ B ein charakteristisches Molekulargewichtsspektrum bzw. Molekulargewichtsverteilung auf. In Tabelle 1 sind die Molekulargewichtsverteilungen von verschiedenen Gelatinetypen bzw. von Kollagenhydrolysaten angegeben, sowie der prozentuale Anteil (Häufigkeit) einzelner Molekulargewichtsbereiche.

Tabelle 1

Molekulargewichtsverteilung von verschiedenen bekannten Gelatinetypen bzw. von bekannten Kollagenhydrolysaten

	Molecular Mass Distri- bution (kD)	Native Collagen %	Gelatin Type B %	Gelatin Type A %	Collagen hydrolysate Gelita ® Collagel A	Collagen hydrolysate Gelita ® Collagel B	Collagen hydrolysate Gelita ® Sol C	Elastin hydrolysate Gelita ® Gelastin
10	>360	100	18,0	18,0	0	0	0	0
	285	0	7,0	9,0	0	0	0	0
	145-237	0	20,0	34,0	1,0	1,5	0	0
15	95	0	26,0	11,0	0	0	0	0
	95-50	0	16,3	13,4	2,6	4,0	1,1	0
	50-20	0	7,4	9,1	18,0	14,5	0,3	0
	20-10	0	3,9	3,8	43,0	31,5	3,7	0,2
	10-5	0	3,0	3,0	15,4	20,0	12,2	5,2
	5-2	0	0	0	6,0	14,0	26,0	93,9
	2-1	0	0	0	7,0	8,0	23,0	0
	<1	0	0	0	6,5	7,0	34,0	0
20	MG	360	165	185	12-18	12-18	3	2-3

Man erkennt in den einzelnen Spalten deutlich das Überwiegen eines einzelnen Bereiches im Vergleich zu den übrigen Molekulargewichtsbereichen derselben Gelatine. Dieser Bereich stellt also das Maximum der Molekulargewichtsverteilung dar (es liegt z.B. bei der in der Abbildung aufgeführten Gelatine Typ B bei 95 kD). Der Begriff des "Maximums der Molekulargewichtsverteilung" ist jedoch streng zu trennen von dem Begriff des "durchschnittlichen mittleren Molekular-

gewichts". Dieser Mittelwert liegt bei der erwähnten Gelatine vom Typ B bei 165 kD.

5 Kolloidale Dispersionen sind i.a. metastabil und flocken daher aus bzw. sedimentieren. Durch das Überwiegen der destabilisierenden Kräfte, verursacht durch van der Waals-Anziehung, ist die elektrostatische Abstoßung der an der Oberfläche einheitlich geladenen Partikeln zu gering, sodaß größere Partikel auf Kosten der kleineren wachsen, was als
10 Ostwald-Reifung bezeichnet wird.

Überraschenderweise zeigt sich bei der Lösung der oben genannten Aufgabe, daß bei Gelatine die Einstellung ihres Ladungszustandes durch die Protonierung bzw. Deprotonierung
15 relativ zum isoelektrischen Punkt (IEP) völlig ausreichend ist, um erfindungsgemäß eine in Wasser schwer lösliche organische Verbindung, insbesondere einen solchen Arzneistoff in Form eines Nanosols zu stabilisieren.

20 Im Rahmen der Erfindung hat sich nun gezeigt, daß die geladenen, kolloiden Arzneistoffpartikel dann stabilisiert werden, wenn ein Ladungsausgleich zwischen diesen Partikeln und einer, gegensinnig geladenen Gelatine, einem Kollagenhydrolysat bzw. einem Gelatinederivat erreicht ist. Dieser Zustand ist der isoionische Punkt (IIP). Dabei zeigt sich
25 erstaunlicherweise, daß die Ostwald-Reifung der kolloiden Arzneistoffpartikel gemäß der Erfindung unterbunden wird. Die Partikel liegen nahezu monodispers vor und sind am Wachstum gehindert. Das Gesamtsystem wird dann als
30 erfindungsgemäßes Nanosol bezeichnet.

Fig.1 zeigt eine schematische Darstellung der einstellbaren Ladungszustände von Gelatinen in Abhängigkeit vom pH-Wert und IEP, wobei der IEP je nach Herstellungsart zwischen 3,5
35 und 9,5 liegen kann. Unterhalb von pH 3,5 sind fast alle

Gelatinetypen positiv geladen. Im basischen Bereich oberhalb von pH 9,5 sind alle Gelatinetypen negativ geladen.

5 Erfindungsgemäß wird daher die Tatsache ausgenutzt, daß Gelatinen, Kollagenhydrolysate oder Gelatinederivate (nahezu unabhängig von der Viskosität) dann zu einem stabilen kolloid-dispersen Systems in Nanosolform führen, wenn der isoionische Ladungszustand zwischen Arzneistoffpartikel und Gelatine, Kollagenhydrolysat oder Gelatinederivat vorliegt.

10 Dagegen wurde Gelatine nach dem Stand der Technik nur zur Stabilisierung eines anorganischen, kolloid-dispersen Systems eingesetzt. So beschreibt z. B. das DAB 9 eine kolloidale Injektionslösung von radioaktivem Gold, die mit Gelatine hergestellt ist. Man stellte sich dabei lediglich
15 vor, daß sich das Makromolekül als "Kittsubstanz" zwischen den einzelnen Kolloidpartikeln befinde und so eine Teilchenaggregation verhindert werde. Dagegen war über den Stabilisierungsmechanismus, z.B. für Arzneistoffe, bisher
20 nichts bekannt.

Weitere internationale (PCT)-Patentanmeldungen der ALFATEC-Pharma GmbH, gegebenenfalls auch der PAZ Arzneimittelerwick-
25 lungsgesellschaft mbH, von demselben Tage betreffen die Akutform von 2-Arylpropionsäurederivaten (81AL2731 entsprechend deutsche Patentanmeldung P 41 40 185.9), die Retardform von Dihydropyridinderivaten (81AL2732 entsprechend deutsche Patentanmeldung P 41 40 194.8), die Akutform von S- und R-Ibuprofen (81AL2733 entsprechend deutsche Patentanmel-
30 dung P 41 40 179.4), die Retardform von S- und R-Ibuprofen (81AL2734 entsprechend deutsche Patentanmeldung P 41 40 172.7), die Akutform von S- und R-Flurbiprofen (81AL2735 entsprechend deutsche Patentanmeldung P 41 40 184.0), die Retardform von S- und R-Flurbiprofen (81AL2736 entsprechend
35 deutsche Patentanmeldung P 41 40 183.2) und Retardform von Indolylessigsäurederivaten (81AL2737 entsprechend deutsche

Patentanmeldung P 41 40 191.3). Ihre Offenbarung wird auch zum Gegenstand der Offenbarung der vorliegenden Patentanmeldung gemacht.

5 Der Beladungsgrad der erfindungsgemäßen Nanosole mit Arzneistoff, ausgedrückt in g Arzneistoff pro g Gelatine, Kollagenhydrolysat oder Gelatinederivat, richtet sich im
allgemeinen nach der Dosierung für den betreffenden Arznei-
stoff. Er kann 1 : 200 bis 1 : 0,5 betragen, beträgt übli-
10 cherweise 1 : 50 bis 1 : 1, insbesondere 1 : 20 bis 1 : 3.
Damit ist das Nanosol erstaunlicherweise geradezu für solche
Arzneistoffe sehr gut geeignet, die gewöhnlich hoch dosiert
werden müssen, wie z. B. Ibuprofen (Einzeldosis für analge-
tische Therapie = 200 mg, für Rheumatherapie = 400 mg). Eine
15 erfindungsgemäße Verbesserung der Bioverfügbarkeit bedeutet
hier eine Dosisreduktion, deren Tragweite für eine Therapie
entscheidend sein kann. Mit weniger Arzneistoff ist somit
eine effizientere Therapie mit geringerer toxischer Bela-
stung des Organismus möglich.

20 Die Arzneistoffpartikel im erfindungsgemäßen Nanosol haben
bevorzugt eine durchschnittliche Teilchengröße von 10 bis
800 nm, insbesondere unterhalb von 400 nm.

25 Der Arzneistoff für die erfindungsgemäßen Nanosole hat be-
vorzugt eine Löslichkeit in Wasser bei Raumtemperatur von
kleiner als 5 g/l, insbesondere kleiner als 1 g/l.

30 Sofern erforderlich, können übliche pharmazeutische Hilfs-
stoffe und/oder weitere Makromoleküle unter Beachtung der
Stabilität dem erfindungsgemäßen Produkt in flüssigem oder
getrocknetem Zustand zugesetzt werden.

35 Ein Zusatz von z.B. Polyvinylpyrrolidon hat sich technolo-
gisch als besonders geeignet erwiesen. Dabei wird insbeson-
dere bei niedrigmolekularem PVP (z.B. PVP K 15) die Stabili-

Für die Entwicklung von peroralen Retardarzneiformen lassen sich vorteilhaft Retard-Nanosole darstellen, wie sie beispielsweise in der internationalen (PCT)-Patentanmeldung mit dem Titel "Sol-gesteuerte Thermokolloidmatrix auf Gelatinebasis für perorale Retardarzneiformen" desselben Anmelders vom selben Tag, entsprechend der deutschen Patentanmeldung P 41 40 192.1 beschrieben werden, deren Offenbarung auch zum Gegenstand der Offenbarung der vorliegenden Patentanmeldung gemacht wird.

Einzelheiten über spezielle Arzneiformen, die schwer lösliche Wirkstoffe in Akut- und/oder Retard-Nanosolform enthalten, können aus den bereits erwähnten Anmeldungen entnommen werden.

Bei der Formulierung von Akut- bzw. Retardpräparaten macht der Pharmazeut einen grundsätzlichen Unterschied zwischen:

1. galenischer Zubereitung, d.h. einer Freisetzung des Arzneistoffes, z.B. aus einer Tablette in zeitlich schneller (Akutform) oder verlangsamter (Retardform) Weise;

und

2. dem arzneistoffspezifischen Resorptionsort, wie z.B. Magen oder bestimmte Darmabschnitte.

Die erfindungsgemäßen Nanosole sind in der Lage, unabhängig von der galenischen Zubereitung, aufgrund ihrer speziellen Zusammensetzung, im gesamten gastrointestinalen Bereich resorbiert zu werden. Sie können daher vorteilhaft zu Akut- bzw. Retardarzneiformen weiterverarbeitet werden.

Fig. 2 zeigt den Mechanismus der passiven Arzneistoffresorption im Gastrointestinal-Trakt.

Weiterhin eignen sich für die erfindungsgemäßen Nanosole Arzneistoffe mit problematischer Bioverfügbarkeit, insbesondere,

- 5 1. aus der Gruppe der starken Analgetika, z. B. Morphin, Dextropropoxyphen, Pentazocin, Pethidin, Buprenorphin;
- 10 2. aus der Gruppe der Antirheumatika/Antiphlogistika (NSAR), z. B. Indometacin, Diclofenac, Naproxen, Ketoprofen;
- 15 3. aus der Gruppe der β -Sympathicolytica, z. B. Propranolol, Alprenolol, Atenolol, Bupranolol;
4. aus der Gruppe der Steroidhormone, z. B. Betamethason, Dexamethason, Methylprednisolon, Fludrocortison und Ester, Ethinylestradiol, Medroxyprogesteronacetat;
- 20 5. aus der Gruppe der Tranquillizer, z. B. Oxazepam, Diazepam;
6. aus der Gruppe der α -Sympatholytica, z. B. Dihydroergotamin;
- 25 7. aus der Gruppe der Hypnotika, z. B. Secbutabarbital, Secobarbital, Pentobarbital;
- 30 8. aus der Gruppe der tricyclischen Antidepressiva, z. B. Nortriptylin, Clomipramin, Amitryptilin;
9. aus der Gruppe der Neuroleptika, z. B. Chlorprothixen, Chlorpromazin, Haloperidol, Trifluopromazin;
- 35 10. aus der Gruppe der Gichtmittel, z. B. Benzbromaron, Allopurinol;

11. aus der Gruppe der Antiparkinsonmittel, z. B. Levodopa;
- 5 12. aus der Gruppe der Koronartherapeutika oder Calciumantagonisten z. B. Nifedipin u. a. Dihydropyridinderivate, Gallopamil;
- 10 13. aus der Gruppe der Antihypertensiva, z. B. Clonidin, Methyldopa, Dihydralazin, Diazoxid, Renin-Antagonisten;
14. aus der Gruppe der Diuretika, z. B. Mefrusid, Hydrochlorothiazid, Furosemid, Triamteren, Spironolacton;
- 15 15. aus der Gruppe der oralen Antidiabetika, z. B. Tolbutamid, Glibenclamid;
16. Peptidarzneistoffe, z.B. Insulin, Renin-Antagonisten.
- 20 17. Digitalisglykoside;
18. Antiarrhythmika;
19. Antibiotika/Chemotherapeutika, z.B. Nitrofurantoin;
- 25 20. Antiepileptika;
21. Antikoagulantia;
- 30 22. Spasmolytika;
23. Antimykotika;
24. Hormone;
- 35 25. Venentherapeutika;

26. Immunsuppressiva, z.B. Ciclosporin;
27. Tuberkulostatika;
- 5 28. Virustatika;
29. Zytostatika;
- 10 30. Provitamine und Vitamine;
31. Phytopharmaka
- 15 32. aus der Gruppe der Arzneistoffe zur Behandlung von
erworbener Immunschwäche (AIDS).

Im Sinne der oben genannten Arzneistoffliste sind auch enantiomerreine Wirkstoffe oder Pseudoracemate erfindungsgemäß geeignet.

20

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Nanosole für Wirkstoffe aus dem Bereich der diätetischen Lebensmittel verwendet werden.

25

Es hat sich erstaunlicherweise im Rahmen der vorliegenden Erfindung gezeigt, daß sich eine Vielzahl von Arzneistoffen in Nanosolform überführen lassen, wenn nach Auswahl einer geeigneten Gelatine (Typ A oder B mit charakteristischem isoelektrischem Punkt, Molekulargewicht, usw.) eine solche

30 Nettoladung des Moleküls eingestellt wird, die zur Ladungsneutralität (isoionischer Punkt = IIP) mit den geladenen Arzneistoffpartikeln führt und eine für den Arzneistoff (Säure, Base oder Neutralstoff bzw. amphoterer Stoff) geeignete erfindungsgemäße Herstellung wählt.

35

Das erfindungsgemäß erhaltene Produkt verhält sich pharmazeutisch gesehen wie eine echte Lösung, ohne jedoch die Probleme des Standes der Technik aufzuweisen; d. h. auf pharmakologisch bedenkliche Hilfsstoffe kann verzichtet werden.

5

Überraschenderweise zeigt sich, daß das Vorliegen stabiler Nanopartikel z.B. im Falle des Glibenclamids oder der schwer wasserlöslichen 3-Indolylessigsäurederivate, besonders Indometacin oder Acemetacin, völlig ausreichend ist, eine Arzneistoffresorption zu erreichen, die

10

a) unmittelbar auf die Wirkstofffreisetzung aus seiner Zubereitung im Magen erfolgt;

b) unabhängig von den oben geschilderten physiologischen Bedingungen ist;

15

c) unabhängig von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Wirkstoffsäure ist;

d) nahezu vollständig ist und

e) ohne vorgelagertes Gleichgewicht der Wirkstoffauflösung erfolgt wie bei herkömmlichen Präparaten (der Wirkstoff steht in resorptionsfähiger Form unmittelbar an jedem beliebigen Resorptionsort zur Verfügung).

20

Damit läßt sich bei unterschiedlichstem Wirkstoff eine Bioverfügbarkeit und Anflutung erreichen, wie sie bisher nicht bekannt ist. Damit verbunden ist ebenso eine Verkürzung der Zeit von der Applikation bis zum Erreichen der Plasmawirkstoffkonzentration im therapeutischen Niveau. Außerdem wird die in der erfindungsgemäßen Arzneiform enthaltene Wirkstoffdosis vollständig ausgenutzt, sodaß damit insgesamt gesehen eine Dosisverminderung gegenüber konventionellen Präparaten bei vergleichbarer Wirkung zustande kommt. Erstaunlicherweise hat sich nämlich gezeigt, daß diese Nanopartikel in dem erfindungsgemäßen Nanosol an jedem gewünschten Resorptionsort ungehindert die Gastrointestinalmembran passieren können (resorbiert werden). Sie verhalten

30

35

sich also, biopharmazeutisch gesehen, wie eine echte Lösung, ohne aber eine solche zu sein.

Es hat sich erstaunlicherweise gezeigt, daß nur Nanopartikel, deren Größe im Bereich von 10 - 800 nm liegt, bevorzugt unterhalb 400 nm direkt resorbiert werden können. Diese Bedingungen werden durch die erfindungsgemäßen Nanosole Glibenclamid und mit 3-Indolylessigsäurederivaten, besonders Indometacin oder Acemetacin als Wirkstoff, erfüllt.

10

Die Vorteile dieses neuartigen Produktes liegen damit auf der Hand. Durch eine kontrollierte Resorption der Wirkstoffe bereits im Magen kann die aufgrund ihrer Schwerlöslichkeit bisher als problematisch eingestufte Anflutungsgeschwindigkeit und Bioverfügbarkeit von Glibenclamid und 3-Indolylessigsäurederivaten, besonders Indometacin oder Acemetacin überraschenderweise erheblich verbessert werden unter gleichzeitiger Erhöhung der Verträglichkeit.

15

20

Die erfindungsgemäß eingesetzten Nanosole zeichnen sich durch hohe Stabilitäten, insbesondere im sauren Bereich aus, ohne zu flocken oder auszukristallisieren. Das bedeutet, daß das Nanosol ausreichend lang während der Magenverweilzeit und unabhängig von auftretenden pH-Schwankungen, z. B. durch Nahrungseinfluß, der Magenmucosa für die Resorption zur Verfügung steht.

25

30

Bei pH-Werten unterhalb von 2 kann die Stabilität des Nanosols durch Auswahl einer auf diesen pH-Bereich abgestimmten Gelatinesorte noch verbessert werden.

35

Die Teilchen der Nanosole liegen nach ihrer Herstellung, nach Resuspendierung des getrockneten Pulvers und nach Resuspendierung aus einer Arzneiform in Teilchengrößen von 10 bis 800 nm, bevorzugt unterhalb 400 nm und darüberhinaus nahezu monodispers vor. Weiterhin ist das Nanosol im

resuspendierten Zustand als Nanodispersion im Magen gut verteilt, was optimale Voraussetzungen für die Resorption schafft. Da die Nanopartikel stabilisiert vorliegen, können sie als solche resorbiert werden, ohne daß sie vorher aufgelöst werden müssen. Damit entfällt ein zeitlich vorgelagertes Lösungsgleichgewicht wie bei mikronisierten Pulvern oder wasserlöslichen Salzen in jedem Falle. Sie verhalten sich demnach, biopharmazeutisch gesehen wie eine echte Lösung, ohne aber eine solche zu sein.

10

Somit wird erstmals durch die vorliegende Erfindung eine kontrollierte Resorption im Gastrointestinaltrakt bereits während der Magenverweilzeit möglich. Die Resorption ist nicht mehr auf den Dünndarmbereich beschränkt; es wird eine schnelle Anflutung für Glibenclamid und für 3-Indolylessigsäurederivate, besonders Indometacin oder Acemetacin ermöglicht.

15

Damit ist es überraschend möglich, bei diesen Arzneistoffen erstmals einen t_{\max} -Wert unterhalb von 1 h, insbesondere unterhalb von 30 min, zu erreichen.

20

Zusätzlich läßt sich auch eine Erhöhung des Blutspiegelmaximalwertes c_{\max} feststellen. Die Erhöhung von c_{\max} kann daher u.U. eine Dosisreduktion bei gleicher Wirksamkeit zur Folge haben.

25

Wie in-vitro Versuche gezeigt haben, ist aufgrund der aufgeführten langen Stabilitäten der erfindungsgemäßen Nanosole die Gefahr der Rekristallisation im Magen auszuschließen.

30

Weiterhin kann die Akutform von Glibenclamid bzw. von 3-Indolylessigsäurederivaten auch mit einer Retardformulierung für Glibenclamid bzw. 3-Indolylessigsäurederivate kombiniert werden.

35

Als besondere Ausführungsform kann ein pulverförmiges oder granuliertes Akut-Nanosol mit einer Matrix-Tablette, wie sie in der oben genannten internationalen (PCT)-Patentanmeldung mit dem Titel "Sol-gesteuerte Thermokolloidmatrix auf Gelatinebasis für perorale Retardformen" der ALFATEC-Pharma GmbH vom selben Tag beschrieben wird, z.B. in einer Hartgelatine kapsel kombiniert werden. Der Inhalt der genannten Anmeldung wird auch zum Inhalt der vorliegenden Patentanmeldung gemacht.

Eine solche Arzneiform setzt den Wirkstoff zunächst schnell frei und die Erhaltungsdosis (Matrix-Tablette) mit hoher Reproduzierbarkeit konstant nach einem Geschwindigkeitsgesetz nullter Ordnung.

Das getrocknete Nanosol kann zu Arzneiformen, beispielsweise zu einer Tablette, weiterverarbeitet und daraus resuspendiert werden. Somit wird ein magensaftresistenter Überzug zum Schutz vor "Inaktivierung" der Wirkstoffe durch den sauren Magen-pH überflüssig.

Die Gefahr einer Überdosierung durch Mehrfacheinnahme wird durch den schnellen Eintritt des therapeutischen Effektes als Folge der Resorption im Magen ausgeschlossen. Alle Nachteile und Gefahren eines magensaftresistenten Überzugs entfallen. Somit dient die vorliegende Erfindung auch der Erhöhung der Patienten-Compliance. Dies alles stellt einen entscheidenden Beitrag zur geforderten Arzneimittelsicherheit dar.

Grundsätzlich läßt sich das erfindungsgemäße Produkt zu allen peroral zu applizierenden Arzneiformen verarbeiten, insbesondere kann es direkt als Pulver in Hartgelatine kapseln abgefüllt werden. Es eignet sich auch hervorragend zur Direkttablettierung. Eine Verarbeitung zu einem Trinkgranulat, schnellauflösenden Pellets oder Trinktabletten ist für die

Applikation als schnellanflutende Akutform von besonderem Interesse.

- 5 Um die physiologischen Hintergründe der Resorption von Arzneistoffen im allgemeinen und die verbesserte Resorptionsquote der erfindungsgemäßen Nanosole ausreichend zu erläutern, ist zunächst eine Betrachtung zum Mechanismus der physiologischen Resorption von Arzneistoffen erforderlich, wie er auch in einschlägigen Publikationen dargestellt wird.
- 10 Allerdings ist die vorliegende Erfindung weder an den folgenden Versuch einer wissenschaftlichen Erklärung der erfindungsgemäß auftretenden Phenomene gebunden noch kann sie hierdurch eingeschränkt werden.
- 15 Die passive Arzneistoffresorption erfolgt nach heutigem Erkenntnisstand (Theorie nach Brodie et al.), wenn folgende Bedingungen vorliegen:
- a) die Gastrointestinalmembran wirkt als Lipidbarriere,
 - 20 b) der Arzneistoff wird nur in gelöster und ungeladener, d.h. nichtionisierter Form aufgenommen,
 - c) saure Arzneistoffe werden bevorzugt im Magen, basische Arzneistoffe bevorzugt im Darm resorbiert.
- 25 Nach der peroralen Aufnahme eines Arzneistoffs in den Organismus wird seine Resorption, d.h. der Übertritt in den allgemeinen Kreislauf (Biophase) in starkem Maße durch physikalische Barrieren behindert (siehe Fig. 2), nämlich
- 30 - durch die Mucus-Schicht und eine wässrige, daran adhärierende Schicht
- die Zellmembranen der intestinalen Epithelzellen mit der daran kovalent gebundenen Glykocalix sowie

- die sogenannten "Tight Junctions", die die Epithelzellen an ihrer apikalen Seite miteinander verbinden.

5 Diese Barrieren bedingen, daß die Resorption von Arzneistoffen hauptsächlich abhängig von ihrem Verteilungsmechanismus und Ladungszustand- durch die Lipid-Doppelschichten erfolgt (sogenannte passive Diffusion).

10 Die Epithelzellen des gesamten Magen-Darm-Traktes sind mit einer Mucus-Schicht bedeckt, die aus Mucinen (Glykoproteinen), Elektrolyten, Proteinen und Nucleinsäuren besteht. Vor allem die Glykoproteine bilden mit dem Hauptanteil des Mucus, nämlich Wasser, eine viskose Gelstruktur, die in erster Linie Schutzfunktionen für die darunter liegende Epithel-

15 schicht ausübt. Die Mucusschicht ist an die apikale Oberfläche der Epithelzellen über die Glykocalix gebunden. Die Glykocalix hat ebenfalls eine Glykoproteinstruktur, die kovalent an Bausteine der Membran-Doppelschicht der Epithelzellen gebunden ist. Die verzweigten Polysaccharide der Glykocalix, die entweder direkt an amphiphile Moleküle der Doppelmembran oder an die Doppelmembran inkorporierte Proteine

20 kovalent gebunden sind, besitzen geladene N-Acetyl-Neuraminsäure- und Sulfat-Reste und sind daher negativ geladen, was zu einer elektrostatischen Bindung oder Abstoßung von geladenen Arzneistoffmolekülen bzw. von elektrostatisch geladenen Partikeln führen kann. Die Epithelzellmembranen bestehen aus Phospholipid-Doppelschichten, in die Proteine über ihre hydrophoben Bereiche verankert sind. Die Phospholipid-Doppelschichten mit ihrem lipophilen Anteil stellen

25 eine weitere Barriere für den Transport der zu resorbierenden Arzneistoffe dar.

30

Aus dieser Darstellung geht deutlich hervor, daß geladene Arzneistoffmoleküle bzw. elektrostatisch geladene Partikel

35 daher nur eine sehr geringe Chance haben, über den peroralen Applikationsweg resorbiert zu werden.

- Die erfindungsgemäßen Nanosole geben erstmalig die technische Lehre, ein System zu bilden, mit dem diese vorgenannten Resorptionshindernisse zu überwinden sind. Da die Wirkstoff-
- 5 Nanopartikel durch die Gelatine erfindungsgemäß ladungsneutral stabilisiert werden, kann ihr Transport durch die negativ geladene Glykocalix ohne größere Hindernisse erfolgen, im Gegensatz zu sonstig beschriebenen Nanopartikeln des Standes der Technik, die nicht ladungsneutral stabilisiert
- 10 werden bzw. stabilisiert werden können. Erfindungsgemäß kann die Einstellung des isoionischen Ladungszustandes zusätzlich noch in Abstimmung auf die physiologischen Verhältnisse erfolgen.
- 15 Da die erfindungsgemäßen Wirkstoff-Nanosole die Glykocalix ungehindert passieren können, ohne durch elektrostatische Effekte gebunden bzw. abgestoßen zu werden, erreichen sie damit auch die Oberfläche der Epithelzellen und stehen dort in hoher Konzentration zur Verfügung.
- 20 Nun können auch aktive, carriervermittelte Transportmechanismen bzw. Phagozytose einen wesentlichen Beitrag zur Resorption der Wirkstoff-Nanosole liefern.
- 25 Erfindungsgemäß werden also vor allem folgende Vorteile gegenüber dem Stand der Technik erzielt:
- in Wasser schwer lösbare anorganische und organische Verbindungen werden in eine Form mit neuen Eigenschaften
 - 30 gebracht;
 - das Verfahren ist auf nahezu alle schwerlöslichen anorganischen und organischen Verbindungen anwendbar;
 - 35 - es ist einfach und ohne aufwendige Geräte und Apparaturen durchzuführen;

- im Körper schlecht lösliche bzw. resorbierbare Arzneistoffe können so in eine Form überführt werden, die sich wie eine echte Lösung verhält;
- 5 - dies gelingt ohne chemische Veränderung, z. B. ohne die Bildung eines Derivates, oder Bildung eines chemischen Komplexes;
- 10 - dies gelingt ohne Zusatz von grenzflächenaktiven oder hydrotropen Substanzen;
- in dieser Form sind schwer lösbare Verbindungen in vivo schneller und vollständiger resorbierbar;
- 15 - die Dosierung kann reduziert werden;
- die erhaltene Form ist lagerstabil;
- 20 - das Biopolymer Gelatine oder ihr Derivat ist ein toxikologisch unbedenklicher Hilfsstoff;
- Gelatine in Akut- bzw. Retardformen trägt zu einer guten Verträglichkeit des erfindungsgemäß formulierten Arzneistoffs bei;
- 25 - die angegebenen Herstellungsverfahren sind wirtschaftlich.
- 30 Das erfindungsgemäße System ist von individuellen Unterschieden, was pH-Wert-Schwankungen oder pH-Einflüsse z.B. durch Nahrungsmittel betrifft, vollkommen unabhängig. Ein zeitlich (und mengenmäßig) unkalkulierbarer Wirkeintritt, wie es bei Produkten des Standes der Technik der Fall sein
- 35 kann, ist damit ausgeschlossen, das Risiko von Nebenwirkungen ist reduziert. Somit stellt die vorliegende Erfindung

einen entscheidenden Beitrag zur geforderten Arzneimittelsicherheit dar.

5 Grundsätzlich läßt sich das erfindungsgemäße Produkt zu allen peroral zu applizierenden Arzneiformen verarbeiten, insbesondere kann es direkt als Pulver in Hartgelatinekapselform abgefüllt werden. Es eignet sich auch hervorragend zur Direkttablettierung. Eine Verarbeitung zu einem Trinkgranulat, schnellauflösenden Pellets oder Trinktabletten ist für die Applikation als schnellanflutende Akutform von besonderem Interesse.

15 Prinzipiell eignen sich zur Herstellung der erfindungsgemäß verwendeten Nanosole alle in der vorliegenden Anmeldung der ALFATEC-Pharma GmbH genannten Vorgehensweisen und Verfahrensvarianten und die Herstellung von Gelatine (Beispiel I bis III). Im Falle der Akutform für Glibenclamid sei als bevorzugt geeignetes Verfahren für die Nanosol-Herstellung die Variante Nr. II und III genannt (siehe unten).

20 Gelatine ist ein aus kollagenhaltigem Material gewonnenes Skleroprotein, das je nach Herstellungsprozeß unterschiedliche Eigenschaften hat. Es existieren Molekulargewichtsbereiche von einigen Tausend D bis hin zu einigen Millionen D, die in ihrer Molekulargewichtszusammensetzung und in ihrem physikalisch-chemischen Verhalten höchst unterschiedlich sein können. Bei genauer Kenntnis dieser Zusammenhänge lassen sich neue pharmazeutische Anwendungen finden, die sich durch hohe Reproduzierbarkeit und einfache technologische Verarbeitung auszeichnen. Einzelheiten können aus den o.g. Anmeldungen entnommen werden. Bei besonders schonender Herstellungsweise kann man Gelatinesorten erhalten, die nur einen geringen Anteil an rechtsdrehenden Aminosäuren aufweisen und somit ähnlich aufgebaut sind wie das native Kollagenmolekül. Diese Gelatinen zeichnen sich zum Beispiel durch besonders gute Stabilisierungseigenschaften für Nanosole

aus. Eine solche Gelatine ist erfindungsgemäß vorteilhaft geeignet. Je nach Aufarbeitung des Rohmaterials (saurer oder basischer Aufschluß) erhält man Gelatinen, deren isoelektrische Punkte ganz unterschiedlich sind. Durch spezielle Herstellungstechniken können isoelektrische Punkte gezielt hergestellt werden, wobei die Molekulargewichtsverteilung auf den Anwendungsfall abgestimmt sein kann.

Im Falle von Glibenclamid sind bevorzugt Gelatinesorten geeignet, deren Maximum der Molekulargewichtsverteilung unterhalb 10^5 D liegt. Zur Tablettenherstellung, wie sie üblicherweise bei oralen Antidiabetica im Vordergrund steht, eignen sich bevorzugt Gelatinesorten mit Bloomwerten von 0 - 50 und einem Maximum der Molekulargewichtsverteilung im Bereich von 10^4 - $9,5 \times 10^4$ D.

Bei den genannten Gelatinen kann ein Gewichtsverhältnis Gelatine zu Wirkstoff von 1:1 bis 200:1 eingestellt werden, wobei ein höheres Gewichtsverhältnis vorteilhafterweise bei der Verarbeitung zu Tabletten etc. zur Vermeidung weiterer Hilfsstoffe gewählt werden kann (z.B. Direkttablettierung).

Für die erfindungsgemäß verwendeten Nanosole mit Glibenclamid oder Indometacin eignen sich auch handelsübliche Gelatinen, fraktionierte Gelatine, Kollagenhydrolysate und Gelatinederivate, insbesondere solche Sorten, die durch eine niedrige Bloomzahl von 0 (kaltwasserlösliche Gelatine oder Kollagenhydrolysate) bis 240 Bloom, vorzugsweise 0 bis 170 Bloom charakterisiert sind.

Im Falle des Glibenclamids werden bevorzugt Gelatinesorten mit IEP's von 3,5 bis 7,5 eingesetzt.

Für die Sprüh- oder Gefriertrocknung von Glibenclamid-Nanosolen hat sich ein Zusatz von Polvinylpyrrolidon (PVP) zur wäßrigen Gelatinelösung, insbesondere PVP K 15 oder PVP

K 25 im Gewichtsverhältnis von 1:5 bis 1:30 als vorteilhaft gezeigt, wobei ohne negative Beeinflussung der Stabilität des Nanosols ein gut rieselfähiges Pulver erhalten wird.

- 5 Prinzipiell eignen sich für die Herstellung der erfindungs-
gemäßen Nanosole auch handelsübliche Gelatinen, stark abge-
baute Gelatinen (Kollagenhydrolysate bzw. kaltwasserlösliche
Gelatine), modifizierte Gelatinen und fraktionierte Gelatine
(Einzelfraktionen bzw. deren Mischung).

10

Ein zu hoher Anteil an Fremdionen (Aschegehalt > 2%) kann
sich jedoch störend auswirken und sollte durch Entsalzung
mit Ionenaustauschharzen entfernt werden (s. allgemein zur
Gelatine: Ullmann, Encyclopädie der technischen Chemie, 3.

15

Aufl. 1954 Bd. 10 und 4. Aufl. 1976 Bd. 12, S. 211; H.E. Wun-
derlich: Wenn es um Gelatine geht - Herausgeber: Deutscher
Gelatine-Verbraucherdienst, Darmstadt (1972); I. Tomka, Ge-
latine, in: W. Fahrig, U. Hofer, Die Kapsel, Wissenschaftli-
che Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1983, S. 33-57.

20

Gegenüber handelsüblichen Produkten führt die Verwendung von
Gelatine, die auf spezielle Weise hergestellt wurde, zu
erfindungsgemäß beschriebenen Nanosolen mit erhöhter Stabi-
lität.

25

Beispiele für die Herstellung erfindungsgemäß besonders ge-
eigneter Gelatinequalitäten werden unten gegeben.

Beispiele für die Herstellung von erfindungsgemäß besonders geeigneten Gelatinesorten mit isoelektrischen Punkten von 3,5 bis 9,5

5

Beispiel I:

Verfahren zur Erzielung eines IEP's von 7,5 bis 9,5

10

Kollagenhaltiges Ausgangsmaterial wie z.B. Schweineschwarten werden mit einer wäßrigen Lösung einer 0,45 N Mineralsäure, vorzugsweise Schwefelsäure, im Flottenverhältnis 1:1 12 bis 20 Stunden behandelt. Anschließend wird der Säureüberschuß durch mehrmaliges Waschen entfernt, wobei zur Abkürzung des Verfahrens Natriumhydrogencarbonat verwendet werden kann.

15

Die Extraktion des sudreifen Materials erfolgt mit heißem Wasser bei 55 - 80° C bei einem pH von 2,5 bis 4,5. Bei pH-Werten unterhalb von 3,5 kann ein IEP von 8,5 bis 9,5 erreicht werden, bei pH-Werten oberhalb 3,5 liegt der IEP bei 7 bis 8,5. Auf diese Weise lassen sich verschiedene IEP's von 7 bis 9,5 in direkter Abhängigkeit vom pH-Wert während der Extraktion erzielen.

20

Nach der Verfahrensstufe der Extraktion wird die wäßrige Lösung neutralisiert und wie üblich aufgearbeitet.

25

Durch dieses Verfahren kann man weiterhin in Abhängigkeit von der gewählten Temperatur während der Extraktion Gelatinesorten mit hohen bis mittleren Molekulargewichtsverteilungen erhalten.

30

Bei Temperaturen von 50-55° C erhält man besonders hochviskose und hochbloomige Qualitäten. Gelatinesorten mit niedrigem Molekulargewicht bzw. kaltwasserlösliche Gelatinen können durch gezielten Abbau mit Kollagenasen erhalten werden.

Beispiel II:

Verfahren zur Erzielung eines IEP's von 4 bis 7,5

5

Das kollagenhaltige Ausgangsmaterial wird zur Entfernung von Fremdstoffen zunächst gewaschen, zerkleinert und anschließend durch Zusatz von Magnesit, Natronlauge oder Calciumhydroxid durch gründliches Vermischen im Flottenverhältnis 1:1,2 homogen alkalisch gemacht. Das so vorbehandelte Material wird kurzzeitig druckhydrolytisch bei $1,01 \times 10^5$ bis $2,02 \times 10^5$ Pa und einem pH-Wert der wäßrigen Lösung von 8-14 aufgeschlossen. Nach dem Aufschluß wird sofort neutralisiert und die noch heiße wäßrige Gelatinelösung wie üblich
10
15
filtriert, entsalzt, aufkonzentriert und getrocknet.

Nimmt man ein schwach basisches Aufschlußmittel wie Magnesit, erhält man einen IEP von 6 bis 7,5, sofern man bei $1,01 \times 10^5$ Pa arbeitet. IEP's von 5 bis 6 erhält man bei Einsatz
20
einer verdünnten Kalkmilchsuspension und bei Verwendung von 0,005 bis 0,1 N Natronlauge können IEP's von 4 bis 5 erzielt werden.

Gelatinesorten mit geringem Racemisierungsgrad und niedrigem Peptidanteil lassen sich bei Druckverhältnissen von $1,01 \times 10^5$ Pa und Verweilzeiten von maximal 10 Min. erreichen.
25

Mittel- bis niedrigmolekulare bis hin zu kaltwasserlöslichen Sorten ergeben sich durch entsprechend längere Verweilzeiten.
30

Beispiel III:

Verfahren zur Erzielung eines IEP's von 3,5 bis 6

- 5 Kollagenhaltiges Ausgangsmaterial, vorzugsweise Spalt bzw. Ossein, wird nach der Eingangswäsche einem Kurzzeitäscher unterworfen. Hierbei bieten sich zwei Verfahrensvarianten im Flottenverhältnis 1:1,3 an, die entweder eine gesättigte
- 10 Kalkmilchsuspension oder eine 0,1 bis 1 N Natronlauge zum Einsatz bringen.
- Bei Verwendung einer Kalkmilchsuspension wird das Rohmaterial unter ständiger Bewegung maximal 3 bis 4 Wochen aufgeschlossen. Anschließend wird das Material durch Säurezugabe
- 15 neutralisiert und mehrmals gewaschen. Die weitere Aufarbeitung folgt wie üblich. Auf diese Weise lassen sich IEP's von 4 bis 6 einstellen.
- 20 Bei Einsatz von Natronlauge läßt sich der Äscherprozeß nochmals verkürzen, wobei bei Konzentrationen von 1 N Natronlauge das Material je nach Zerkleinerungsgrad bereits nach 6 - 12 Stunden aufgeschlossen ist. Die Neutralisation erfolgt mit äquimolaren Mengen Mineralsäure und die Neutralsalze
- 25 werden durch mehrmaliges Waschen oder durch Entsalzen der in der Extraktion gewonnenen wäßrigen Gelatinelösung entfernt. Bei dieser Verfahrensvariante lassen sich IEP's von 3,5 bis 5 erhalten.
- 30 Besonders peptidarme Gelatinesorten werden bei kurzer Verweilzeit im Äscher erhalten. Man kann so Gelatinesorten mit hoher bis mittlerer Molekulargewichtsverteilung ($M = 10^4 - 10^7$ D) erhalten.
- 35 Niedrigmolekulare bis kaltwasserlösliche Gelatinesorten kann man durch thermischen Abbau bzw. enzymatisch erhalten.

Wie eingangs schon erwähnt und wie aus Fig.1 ersichtlich ist, hängt die absolute, maximal mögliche Nettoladung eines einzelnen Gelatinemoleküls hauptsächlich von der Anzahl der freien COOH- und NH₂-Gruppen und dem pH-Wert der Lösung ab. Da sich Typ A, B, Kollagenhydrolysate oder Gelatinederivate in der Anzahl freier COOH-Gruppen unterscheiden, ist damit auch ihre maximal mögliche Nettoladung unterschiedlich. Bei Gelatinederivaten kann der Ladungszustand zusätzlich von der Art der Modifizierung abhängen.

Bei der Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens wählt man in einem Vortest die geeignete Gelatine und den geeigneten pH-Wert aus.

Zunächst wird ein den physikalisch-chemischen Eigenschaften des Arzneistoffs angepaßter Arbeits-pH-Bereich gewählt. Als physikalisch-chemische Eigenschaft des Arzneistoffs sind vor allem zu berücksichtigen: Die Löslichkeit (in organischen Lösungsmitteln bzw. Wasser), seine Eigenschaft als Säure, Base oder Neutralstoff sowie seine Stabilität gegenüber Säuren und Laugen.

In einem ersten Schnelltest wird festgestellt, welche Ladung die ausgefällten Partikel besitzen. Daraus ergibt sich, unter Berücksichtigung des Arbeits-pH-Bereichs, die Wahl eines geeigneten Gelatinetyps. Sind die Teilchen beispielsweise negativ geladen, sucht man eine Gelatine aus, die unter den gegebenen pH-Bedingungen positiv geladen ist. Dieser Schnelltest zur Feststellung der Partikelladung hat die Vorteile, daß er ohne großen apparativen und zeitlichen Aufwand durchgeführt werden kann. So kann auf eine zeitaufwendige und ungenaue Zeta-Potential-Messung gänzlich verzichtet werden.

In vielen Fällen wird es ausreichend sein, für diesen Schnelltest zwei handelsübliche Gelatinen Typ A und B mit einem IEP von 9,5 bzw. 3,5 mit Peptidanteilen <30 % und einer Bloomzahl von 200, die weiterhin als Standardgelatinen bezeichnet werden, bei einem pH-Wert von 6 in die Solform zu überführen (5%ige wäßrige Lösung) und den Arzneistoff in einem mit Wasser mischbaren Lösungsmittel, wie z. B. Ethanol, Isopropanol oder Aceton, zu lösen und jeweils mit den Gelatinelösungen homogen zu mischen. Bei gleicher Dosierung des Arzneistoffs wird sich bei der in ihrem Ladungszustand nicht geeigneten Gelatine ein kolloidales System entweder nicht ausbilden oder sofort instabil werden bzw. der Arzneistoff ausflocken. Sind die entstehenden Partikel negativ geladen, werden sie eher von Gelatinelösung mit Typ A, der bei einem pH-Wert von 6 positiv geladen ist, stabilisiert als von der Lösung mit Gelatine Typ B; im Gegenteil wird in diesem Fall Typ B entweder kein kolloidales System ausbilden oder das System sofort destabilisieren. Das Ausflocken der Teilchen läßt sich z. B. über eine einfache Trübungs-Messung verfolgen.

Bei diesem Schnelltest muß auf jeden Fall der Arbeits-pH-Bereich beachtet werden. Man kann auch andere Gelatinen als Standard auswählen, sie müssen jedoch in ihrem IEP so gewählt werden, daß sie bei diesem pH-Wert entgegengesetzte Nettoladung tragen (siehe auch Fig.1). In den meisten Fällen werden die besagten Standardgelatinen Typ A und B für diesen Schnelltest ausreichen.

Ausgehend vom Ergebnis des Vorversuchs werden nun durch schrittweise Variation des IEP's durch Verwendung entsprechender Gelatinesorten und des pH-Wertes der Lösung in kleineren Bereichen (z. B. 0,1 pH-Schritte) die optimalen Bedingungen zur Bildung der Nanosole ermittelt. D.h. es muß das Stabilitätsoptimum, das durch den isoionischen Punkt (IIP) gekennzeichnet ist, gefunden werden, um eine ausrei-

chende Stabilität für die genannten pharmazeutischen Anwendungen zu gewährleisten.

Es kann durchaus der Fall sein, daß eine im Sinne der Erfindung akzeptable Stabilität der Nanosole bereits in einem engeren pH-Bereich (ca. 0,5 Einheiten) um den isoionischen Punkt gefunden wird, so daß eine Einstellung dieses Punktes selbst nicht unbedingt notwendig ist. Andererseits können auch mehrere Gelatinen zu den gleichen, stabilen Ergebnissen führen. So kann beispielsweise (Beispiel 5) mit dem oralen Antidiabetikum Glibenclamid bei einem Gelatinetyp B mit einem IEP von 5,5 das Stabilitätsoptimum bei einem pH-Wert von 3,2 liegen, während bei einem Gelatinetyp B mit einem IEP von 3,8 das Stabilitätsoptimum bei einem pH-Wert von 2,2 liegt.

Gekennzeichnet durch ein Stabilitätsmaximum, wurde in beiden Fällen der isoionische Punkt erreicht (die Abhängigkeit der Nettoladung vom pH-Wert und dem IEP muß nicht linear sein, da sie durch den pK_s -Wert der vorhandenen $COOH$ - bzw. NH_3^+ -Gruppen gegeben ist).

Erfindungsgemäß können auch andere makromolekulare Stoffe neben Gelatine, Kollagenhydrolysaten, fraktionierter Gelatine oder Gelatinederivaten in geringen Anteilen (maximal 5 Gew.-%) zugesetzt werden. Dabei kann es sich um amphotere bzw. geladene Stoffe, wie beispielsweise Albumine, Casein, Glykoproteine oder andere natürliche oder synthetische Polypeptide handeln. In besonderen Fällen können auch anionische Polymere wie z.B. Alginate, Gummi arabicum, Pektine, Polyacrylsäuren u.a. geeignet sein.

Es werden erfindungsgemäß mehrere Verfahren zur Herstellung der Nanosole vorgeschlagen. Dabei handelt es sich um eine beispielhafte, unvollständige Aufzählung. Der Fachmann kann

aufgrund seines Fachwissens selbstständig weitere Varianten im Rahmen der vorliegenden Erfindung ausarbeiten:

Verfahren I

5

Dieses kann angewendet werden, wenn der Arzneistoff in einer Mischung aus:

einem mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmittel und Wasser, oder

10

aus mehreren mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmitteln und Wasser

löslich ist:

15

a) eine in den Vorversuchen ausgewählte Gelatine wird mit Wasser in Solform überführt;

b) der in den Vorversuchen gefundene pH-Wert der Lösung wird eingestellt;

20

c) ein oder mehrere mit Wasser mischbare(s), organische(s) Lösungsmittel, vorzugsweise Ethanol, Isopropanol oder Methanol, wird/werden zu dieser Lösung gegeben;

25

d) der Arzneistoff wird in fester Form zu der Lösung gegeben und gelöst;

e) das/die organische(n) Lösungsmittel wird/werden entfernt, vorzugsweise durch Eindampfen in Vakuum; dabei entsteht das Nanosol;

30

f) die kolloid-disperse Lösung wird anschließend, vorzugsweise durch Sprüh- oder Gefriertrocknung, getrocknet.

35

Das organische Lösungsmittel hat die Aufgabe, den Arzneistoff zu lösen und verändert auch die Hydrathülle der Gelatinemoleküle.

Verfahren II

5 Diese Ausführungsform kann angewendet werden, wenn der Arzneistoff eine Säure oder eine Base ist, deren Salz in Wasser löslich ist:

- 10 a) eine in den Vorversuchen ausgewählte Gelatine wird mit H_2O in die Solform überführt;
- b) es wird ein solcher pH-Wert eingestellt, der die Salzbildung des Arzneistoffs ermöglicht;
- 15 c) der Arzneistoff wird unter Salzbildung in dem Gelatine-sol gelöst;
- d) durch Zugabe von Alkohol oder ähnlichen organischen Lösungsmitteln kann die Hydrathülle der Gelatinemoleküle gelockert werden;
- 20 e) durch Zugabe einer geeigneten Menge Säure oder Base wird der pH-Wert eingestellt, der zur Bildung des isoelektrischen Punkts (IIP) führt, dabei entsteht das Nanosol;
- 25 f) die kolloid-disperse Lösung wird wie in Verfahren I getrocknet.

Stufe d) ist fakultativ, jedoch bevorzugt

30

Verfahren III

Diese Ausführungsform kann angewendet werden, wenn der Arzneistoff ein Neutralstoff ist:

35

- a) es wird ein Gelatinesol hergestellt, wie unter (1) a) und b) beschrieben.
- 5 b) eine zweite Lösung aus einem mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmittel, vorzugsweise Ethanol, Methanol, Isopropanol, Aceton und dem Arzneistoff wird hergestellt.
- c) die beiden Lösungen werden vereinigt.
- 10 d) das organische Lösungsmittel wird entfernt und die kolloid-disperse Lösung wird getrocknet.

Verfahren IV

- 15 a) Wie unter (I) a) und b) beschrieben.
- b) In einer zweiten Lösung wird ein kolloid-disperses System mit dem Arzneistoff kurzzeitig gebildet, jedoch
- 20 ohne Gelatine.
- c) Die unter (b) erhaltene Lösung wird kontinuierlich mit der Gelatinelösung vereinigt.
- 25 Bei Schritt (IV) c) kann die kontinuierliche Vermischung der unter (IV) a) und b) beschriebenen Lösungen zeitabhängig durch on-line Messung der Teilchengröße mit einem geeigneten Verfahren, wie z.B. durch Laser-Licht-Streuung (BI-FQELS On-line Particle Sizer), gesteuert werden. Damit ist es möglich, eine gewünschte Partikelgröße kontinuierlich
- 30 einzustellen.

Alle genannten Verfahren sind auch für Kollagenhydrolysate und Gelatinderivate geeignet und können problemlos in den

35 technischen Maßstab übertragen werden.

Die wesentlichen Schritte können weitgehend automatisiert ablaufen, wobei auch Verfahren I bis III kontinuierlich durchführbar sind.

5 Vorstehend wird ein pharmazeutisch applizierbares Nanosol und ein Verfahren zu seiner Herstellung mit verschiedenen Ausführungsformen beschrieben. Die Erfindung betrifft jedoch ganz allgemein ein Nanosol, d. h. ein stabiles hochdisperses System von in Wasser schwerlöslichen anorganischen und/oder
10 organischen Verbindungen mit Gelatine, das gekennzeichnet ist durch

- 15 a) eine innere Phase aus der oder den anorganischen und /oder organischen Verbindung(en), die eine Teilchengröße von 10 bis 800 nm aufweist (aufweisen) und eine negative oder positive Oberflächenladung besitzt (besitzen),
- 20 b) eine äußere Phase aus Gelatine, Kollagenhydrolysat oder einem Gelatinederivat, welche(s) positiv oder negativ geladen ist,
- c) einen annähernd oder vollständig isoionischen
25 Ladungszustand der inneren und äußeren Phase.

25 Ein solches Nanosol kann als flüssige, wäßrige Nanodispersion vorliegen. Es kann aber auch als feste, resuspendierbare Nanodispersion vorliegen. Besonders bevorzugt ist ein Nanosol, bei dem die anorganische und/oder organische Verbindung oder organischen Verbindungen eine Partikelgrößen-
30 verteilung unterhalb 300 nm, insbesondere 10 bis 100 nm aufweist (aufweisen). Bei positiv geladenen Teilchen der organischen Verbindung(en) weist die Gelatine eine negative Nettoladung auf, während sie bei negativ geladenen Teilchen der
35 organischen Verbindung(en) einen positive Nettoladung besitzt.

Das Verfahren zur Herstellung eines solchen Nanosols von in Wasser schwerlöslichen anorganischen und/oder organischen Verbindungen wird nach dem Verfahren durchgeführt, das vorstehend in Zusammenhang mit der Herstellung von pharmazeutisch applizierbaren Nanosolen beschrieben wurde.

Folgende Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern:

10

Beispiel 1

Arzneistoff: Ibuprofen (Racemat), Wirkstoffsäure
Gelatinetyp: handelsüblich, Typ B, 170 Bloom
15 Nanosol-Herstellung: Analog Verfahren I
Gewichtsverhältnis Gelatine/Arzneistoff: 1,5 : 1

Der Arbeits-pH-Bereich für Ibuprofen liegt vorzugsweise unterhalb seines pK_s -Wertes von 4,6.

20

Der Vortest bei pH 4,3 zur Ermittlung der Oberflächenladung der Ibuprofen-Partikel ergibt bei der Standardgelatine Typ B (IEP 3,5/200 Bloom) kein Nanosol. Unter gleichen Testbedingungen ergibt die Standardgelatine Typ A (IEP 9,5/200 Bloom) ein kurzzeitig stabiles Nanosol, bei dem die vorliegenden Ibuprofen-Partikel eine negative Oberflächenladung tragen.

25

Zur Ermittlung des Stabilitätsoptimums werden nun Gelatinesorten mit verschiedenen IEP's bei verschiedenen pH-Werten unterhalb pH 4,3 getestet. Die Meßreihe ergibt, daß sich eine Gelatine vom Typ B (IEP 4,9), die bei pH 3 eine positive Nettoladung trägt, am besten eignet. Das nach Verfahren I gebildete Nanosol weist ein für pharmazeutische Anwendung
35 geeignetes Stabilitätsmaximum auf.

500 g einer 3%igen wäßrigen Gelatinelösung obengenannten Typs werden auf pH 3 gebracht.

250 ml Ethanol 96 % werden zugegeben.

5

10 g Ibuprofen werden in dieser Mischung gelöst, dann das organische Lösungsmittel evaporiert. Das so hergestellte Nanosol wird anschließend sprühgetrocknet und kann zur entsprechenden Arzneiform weiterverarbeitet werden.

10

Teilchengrößenmessungen mit einem BI-FOQELS On-line Particle Sizer ergeben zu 65 % Teilchengrößen von 450 nm.

Beispiel 2

15

Man verfährt wie unter Beispiel 1, verwendet jedoch eine Gelatine, die nach Beispiel III (Gelatineherstellung) mit gleichem Bloomwert und gleichem IEP (4,9) gewonnen wurde.

20

Teilchengrößenmessung ergeben zu 70% Teilchengrößen von 265 nm.

Beispiel 3

25

Arzneistoff:	Dexamethason, Neutralstoff
Gelatinetyp:	Typ A, 220 Bloom, Herstellung Beispiel I
Nanosol-Herstellung:	Analog Verfahren III
Gewichtsverhältnis Gelatine/Arzneistoff:	ca. 10 : 1

30

Der bei pH 7 analog Beispiel 1 durchgeführte Vortest ergibt im Falle des Neutralstoffs Dexamethason, daß eine Gelatine Typ A geeignet ist.

35

Eine Gelatine Typ A (IEP 7,9) mit einem positiven Ladungszustand bei pH 5,3 ergibt das Stabilitätsoptimum.

500 g einer 7,5%igen wäßrigen Gelatinelösung aus oben spezifizierter Gelatinesorte wird durch Säurezusatz auf pH 5,3 eingestellt.

5

3,5 g Arzneistoff werden in 100 ml Aceton gelöst.

Beide Lösungen werden gemischt und das entstandene Nanosol nach Entfernung des organischen Lösungsmittels sprühgetrocknet.

10

Die durchschnittliche Teilchengröße des Nanosols liegt zwischen 260 und 300 nm.

15

Beispiel 4

Man stellt das Nanosol wie in Beispiel 3 her, aber unter Verwendung einer Gelatine handelsüblicher Qualität mit gleichen Kennzahlen.

20

Die durchschnittlichen Teilchengrößen liegen im Bereich von 550 bis 630 nm.

Beispiel 5

25

Arzneistoff:	Glibenclamid, Wirkstoffsäure
Gelatinetyp:	Typ B, 100 Bloom, Herstellung Beispiel III
Nanosol-Herstellung:	Analog Verfahren III
Gewichtsverhältnis Gelatine/Arzneistoff:	100 : 1

30

Der Arbeits-pH-Bereich für die schwache Wirkstoffsäure Glibenclamid liegt vorzugsweise unter ihrem pK_s -Wert von 6,3 bis 6,8.

35

Der erfindungsgemäße Vortest und die Meßreihe ergibt bei einem pH-Wert von 2,2 für den isoionischen Ladungszustand ein Optimum mit einer Gelatine Typ B (IEP 3,8).

- 5 Zur Nanosol-Herstellung werden nun 5 g Gelatine obigen Typs mit Wasser zu 5 % in die Solform überführt.

- 10 50 mg Glibenclamid werden in 30 ml Ethanol 96% gelöst und mit der wäßrigen Gelatinelösung homogen vermischt.

Das entstandene Nanosol wird nach Abrotieren des organischen Lösungsmittels lyophilisiert.

- 15 Durchschnittliche Teilchengrößen liegen bei 130 nm.

Beispiel 6

- Arzneistoff: Propranolol, Wirkstoffbase
20 Gelatinetyp: Typ B, 320 Bloom, Herstellung
Beispiel II
Nanosol-Herstellung: Analog Verfahren II
Gewichtsverhältnis Gelatine/Arzneistoff: 4 : 1
25 Arbeits-pH-Bereich: 9,2

Nach Vortest ausgewählte Gelatine: Typ B/ 320 Bloom, IEP 4,2

- 30 In einer warmen Gelatinelösung (64 g und 640 ml Wasser) werden 16 g Propranolol-Hydrochlorid bei pH 3 aufgelöst. Durch Zugabe von Natronlauge wird ein pH-Wert von 8,8 eingestellt, bei dem sich ein Nanosol der Propranolol-Base bildet. In diesem Fall ist der isoionische Ladungszustand nur annähernd erreicht.

Die durchschnittlichen Teilchengrößen variieren stärker und liegen im Bereich von 650 bis 780 nm.

Beispiel 7

5

Arzneistoff: Indometacin, Wirkstoffsäure
Gelatinetyp: Kollagenhydrolysat mit einem
Peptidanteil von 90%, Herstellung
Beispiel II

10

Nanosol-Herstellung: Analog Verfahren II
Gewichtsverhältnis Gelatine/Arzneistoff: 5 : 1

Der Vortest wird wie in Beispiel 1, jedoch bei einem bei einem pH-Wert von 4,0 durchgeführt.

15

Das Stabilitätsoptimum des Nanosols wird bei dem Kollagenhydrolysat mit einem IEP von 5,2 und einem pH-Wert der wäßrigen Arzneistoff/Gelatinelösung von 3,1 erreicht.

20

150 g des Kollagenhydrolysats werden in 2 l destilliertem Wasser aufgelöst. In dieser Lösung werden 30 g Indometacin suspendiert. Mit Natronlauge wird der pH-Wert des Systems zwischen 7 und 8 gehalten. Es wird solange weitergerührt, bis eine völlig klare Lösung entsteht. Danach wird durch
25 Zugabe einer abgemessenen Menge Salzsäure der pH-Wert auf 3,1 eingestellt, bei dem sich spontan das Nanosol ausbildet.

25

Die erhaltene Nanosol-Lösung wird aufkonzentriert und
sprühgetrocknet. Das erhaltene Pulver wird zu einer Akutform
30 weiterverarbeitet.

30

Teilchengrößenmessung ergibt zu 70% Teilchengrößen kleiner als 370 nm.

Beispiel 8

Arzneistoff: Nifedipin, Neutralstoff
5 Gelatinetyp: handelsüblich, Typ B, 60 Bloom
Nanosol-Herstellung: analog Verfahren III
Gewichtsverhältnis Gelatine/Arzneistoff: 15:1

10 Die Herstellung erfolgt unter Lichtschutz (Gelblicht).

Der Vortest wird analog Beispiel 1, jedoch bei einem pH-Wert von 6,0 durchgeführt.

15 Die anschließende Meßreihe zur Ermittlung des Stabilitätsoptimums ergibt eine Gelatine Typ B (IEP 4,7) bei einem pH-Wert von 5,5.

20 600 g oben spezifizierter, vollentsalzter Gelatine und 40 g PVP K 15 werden bei 40°C in 8 l destilliertem Wasser gelöst und auf einen pH-Wert von 5,5 eingestellt.

40 g Nifedipin werden in 1,3 l Ethanol vollständig gelöst.

25 Beide Lösungen werden homogen vermischt und das entstandene Nanosol nach Entfernung des Alkohols sprühgetrocknet. Das erhaltene Pulver wird in opake Hartgelatine kapseln mit einem Gehalt von 10 mg Nifedipin pro Kapsel abgefüllt.

30 Der Dissolutionstest (paddle) ergibt 100% Freisetzung nach 9 Minuten (75 Upm/ 900 ml 0,1 N HCl).

35 Die Bioverfügbarkeit wird in-vivo gegenüber herkömmlicher Kapselzubereitung mit mikronisiertem Nifedipin um 25% gesteigert. Maximale Blutspiegelwerte sind im Durchschnitt nach 20 Min. erreicht.

Beispiel 9

Wirkstoff: Glibenclamid, Wirkstoffsäure
Gelatinetyp: handelsüblich, Typ B,
5 Molekulargewicht unterhalb 10^4 D
Nanosol-Herstellung: analog Verfahren III
Gewichtsverhältnis Gelatine/Wirkstoff: 35:1

10 Der Arbeits-pH-Bereich liegt unterhalb des pK_S -Wertes von 6,3-6,8.

Nach Durchführung des erfindungsgemäßen Vortests und der
Meßreihe zur Bestimmung der optimalen Gelatinesorte wird ein
15 Stabilitätsmaximum mit einer Gelatine Typ B (IEP 3,8) bei
einem pH-Wert von 2,2 ermittelt.

500 g obiger Gelatine werden in 3 l dest. Wasser gelöst.
Durch Zugabe von Salzsäure wird ein pH-Wert von 2,2 einge-
20 stellt.

13,89 g Glibenclamid werden in 0,2 l Ethanol gelöst. Die
beiden Lösungen werden vereinigt, wobei sich das Nanosol
bildet.

25 Teilchengrößenmessungen ergeben zu 80% Teilchengrößen kleiner 380 nm.

Das organische Lösungsmittel wird unter Vakuum entfernt und
30 anschließend wird sprühgetrocknet.

Das getrocknete Nanosol wird unter Zusatz üblicher
Tablettierhilfsstoffe auf einer Exzenterpresse zu Tabletten
geformt. Es resultieren schnell anflutende Tabletten mit je-
35 weils 3,5 mg Glibenclamidgehalt.

Beispiel 10:

Wirkstoff: Glibenclamid, Wirkstoffsäure
Gelatinetyp: Typ B (IEP 3,8), 20 Bloom,
5 Herstellung Beispiel III
Nanosol-Herstellung: analog Verfahren III
Gewichtsverhältnis Gelatine/Wirkstoff: 35:1

Die Herstellung des Nanosols erfolgt analog Beispiel 9.

10 Teilchengrößenmessungen ergeben zu 80% Teilchengrößen
kleiner 180 nm.

Beispiel 11:

15 Wirkstoff: Indometacin, Wirkstoffsäure
Gelatinetyp: handelsüblich, Typ B, 60 Bloom,
Nanosol-Herstellung: analog Verfahren II
Gewichtsverhältnis Gelatine/Wirkstoff: 6:1

20 Der Arbeits-pH-Bereich liegt unterhalb des pK_S -Wertes von
4,5.

Nach Durchführung des erfindungsgemäßen Vortests und der
25 Meßreihe zur Bestimmung der optimalen Gelatinesorte wird ein
Stabilitätsmaximum mit einer Gelatine Typ B (IEP 5,2) bei
einem pH-Wert von 3,1 ermittelt.

600 g obiger Gelatine werden in 10 l dest. Wasser gelöst. In
30 dieser Gelatinelösung werden 100 g Indometacin suspendiert.
Natronlauge wird zugegeben, sodaß der pH-Wert des Systems im
Bereich von 7 - 8 eingestellt wird. Es wird solange
weitergerührt, bis eine klare Lösung entsteht. Danach wird
durch Zugabe von Salzsäure auf pH 3,1 eingestellt, wobei
35 sich das Nanosol bildet.

Durch anschließende Sprühtrocknung wird das Wasser entzogen. Unter Zusatz üblicher Tablettierhilfsstoffe wird das getrocknete Nanosol auf einer Exzenterpresse zu Tabletten verpreßt. Es resultieren schnell anflutende Tabletten mit je-

5 weils 50 mg Indometacingehalt.

Teilchengrößenmessungen (BI-FOQUELS on-line Particle-Sizer) ergeben durchschnittliche Teilchengrößen von ca. 370 nm.

10 **Beispiel 12:**

Analog Beispiel 11, nur die wird die Gelatine vor der Herstellung der Lösung mit 10 g Polyvinylpyrrolidon K 15 gemischt.

15

Teilchengrößenmessungen ergeben durchschnittliche Teilchengrößen von ca. 390 nm.

In einem Dissolutionstest nach USP (750 ml Prüfvolumen, bestehend aus 1 Volumenteil Phosphatpuffer pH 7,2 und 4 Volumenteilen Wasser, paddle, 100rpm, 37°C) ergibt sich eine vollständige Tablettenauflösung innerhalb von 15 Minuten. Im Vergleich dazu werden Tabletten aus Beispiel 11 unter gleichen Prüfbedingungen untersucht und zeigen im Durchschnitt

20 um 20% höhere Auflösezeiten.

25

Beispiel 13:

Wirkstoff: Indometacin, Wirkstoffsäure

30 Gelatinetyp: Kollagenhydrolysat (IEP 5,2), Herstellung nach Beispiel II

Nanosol-Herstellung: analog Verfahren III

Gewichtsverhältnis Gelatine/Wirkstoff: 4:1

35 300 g oben spezifizierter Gelatine werden in 3 l destilliertem Wasser gelöst und ein pH-Wert von 3,1 eingestellt.

75 g Indometacin werden in 500 ml Isopropanol gelöst. Beide
Lösungen werden vereinigt und das organische Lösungsmittel
durch Evaporation unter Vakuum entfernt, wobei sich das
5 Nanosol bildet.

Anschließend wird lyophilisiert. Das erhaltene Pulver wird
in opake Hartgelatine kapseln mit einem Gehalt von jeweils 25
mg Indometacin abgefüllt.

10

Diese Kapseln ergeben in einem Dissolutionstest nach USP
(750 ml Prüfvolumen, bestehend aus 1 Volumenteil Phos-
phatpuffer pH 7,2 und 4 Volumenteilen Wasser, Drehkörbchen,
100 rpm, 37°C) einen Kapselzerfall innerhalb von 3 min.

15

Patentansprüche

5

1. Verfahren zur Herstellung eines kolloid-dispersen Systems von in Wasser schwerlöslichen Arzneistoffen, dadurch gekennzeichnet, daß man

10

- a) eine Gelatine, ein Kollagenhydrolysat oder ein Gelatinederivat nach ihrem (seinem) isoelektrischen Punkt (IEP) so auswählt, daß ihr (sein) IEP mit dem Ladungszustand der Arzneistoffpartikel so abgestimmt ist, daß die Gelatine, das Kollagenhydrolysat oder

15

das Gelatinederivat bei einem bestimmten pH-Wert mit dem ungelösten Arzneistoff zu Ladungsneutralität führt,

20

- b) die Gelatine, das Kollagenhydrolysat oder das Gelatinederivat in die wäßrige Solform überführt,

25

- c) den pH-Wert in Abhängigkeit von dem IEP der Gelatine auf einen solchen Wert einstellt, daß die sich bildenden Nanopartikel des Arzneistoffes nahezu oder vollständig ladungsneutral stabilisiert werden, und

30

- d) vor oder nach Stufe c) den Arzneistoff in dem wäßrigen Gelatinesol löst oder eine Lösung des Arzneistoffes mit dem wäßrigen Gelatinesol vereinigt.

35

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man in Stufe d) den gelösten Arzneistoff vor der Vereinigung mit dem wäßrigen Gelatinesol kurzzeitig in kolloid-disperse Form von Nanopartikeln überführt und die so erhaltene Dispersion von Nanopartikeln kontinuierlich mit dem wäßrigen Gelatinesol vereinigt.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß man
5 e1) den Arzneistoff in Form von Nanopartikeln ausfällt.
4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß man
10 e2) die in Stufe d) erhaltene kolloid-disperse Lösung
 sprühtrocknet oder gefriertrocknet und so ein stabiles
 resuspendierbares Nanosol erhält, daß nach Wiederauflö-
 sung in wäßrigem Medium ein kolloid-disperses System in
 Nanosolform ergibt.
5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekenn-
15 zeichnet, daß man in Stufe d) den Arzneistoff in einem
 mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmittel gelöst,
 zusetzt.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch ge-
20 kennzeichnet, daß man den Arzneistoff, der eine Säure
 oder Base ist, in sein Salz überführt.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch ge-
25 kennzeichnet, daß man die mit Wasser mischbaren organi-
 schen Lösungsmittel in Stufe b) dem wäßrigen Gelatine-
 sol zusetzt und
 in Stufe d) den Arzneistoff in fester Form dieser Mi-
 schung zusetzt und damit löst.
8. Verfahren nach Anspruch 5 oder 7, dadurch gekennzeich-
30 net, daß man das organische Lösungsmittel anschließend
 wieder entfernt.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3 und/oder 8
35 dadurch gekennzeichnet, daß man die Nanopartikel-Lösung
 anschließend trocknet.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß man die Lösung sprühtrocknet.
- 5 11. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß man die Lösung gefriertrocknet.
12. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß man vor Einstellung des pH-Wertes auf den
10 isoionischen Punkt in Stufe c) den pH-Wert so einstellt, daß der Arzneistoff ein Salz bildet.
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß man im Anschluß an Stufe d) ein mit
15 Wasser mischbares organisches Lösungsmittel zur Lockerung der Hydrathülle der Gelatinemoleküle zusetzt.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß man in Stufe b) zusätzlich Polyvi-
20 nylpyrrolidon in einem Gewichtsverhältnis von Gelatine zu Polyvinylpyrrolidon wie 5:1 bis 500:1 vorzugsweise 5:1 bis 30:1 zugibt.
15. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß
25 man einen Alkohol zusetzt.
16. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß man die kolloiden Teilchen kontinuierlich mit einer
einstellbaren Partikelgröße herstellt.
- 30 17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß man die Teilchengröße kontinuierlich mißt.
18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch
35 gekennzeichnet, daß man es kontinuierlich durchführt.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Gelatine verwendet, bei der der native Zustand des Kollagens weitgehend erhalten ist.
- 5
20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Gelatine mit kurzer Erstarrungszeit (Peptidanteil < 20%) einsetzt.
- 10
21. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Gelatine vom Typ A einsetzt.
- 15
22. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Gelatine vom Typ B einsetzt.
- 20
23. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-22, dadurch gekennzeichnet, daß man als Arzneistoff Glibenclamid einsetzt.
- 25
24. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-22, dadurch gekennzeichnet, daß man als Arzneistoff ein 3-Indolyl-essigsäurederivat einsetzt.
- 30
25. Pharmazeutisch applizierbares Nanosol von in Wasser schwerlöslichen Arzneistoffen mit Gelatine, gekennzeichnet durch
- 35
- a) eine innere Phase aus dem Arzneistoff, der eine Teilchengröße von 10 - 800 nm aufweist und eine negative oder positive Oberflächenladung besitzt,
- b) eine äußere Phase aus Gelatine, einem Kollagenhydrolysat oder einem Gelatinederivat, welche(s) positiv oder negativ geladen ist,

- c) einen annähernd oder vollständig isoionischen Ladungszustand der inneren und äußeren Phase, und
- 5 d) seine physiologische Resorbierbarkeit.
26. Nanosol nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß es als flüssige, wäßrige Nanodispersion vorliegt.
- 10 27. Nanosol nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß es als feste, resuspendierbare Nanodispersion vorliegt.
28. Nanosol nach einem der Ansprüche 25 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß der Arzneistoff eine Partikelgrößenverteilung unterhalb 400 nm aufweist.
- 15 29. Nanosol nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß der Arzneistoff eine durchschnittliche Teilchengröße von 10 bis 100 nm aufweist.
- 20 30. Nanosol nach einem der Ansprüche 25 bis 29, gekennzeichnet durch eine äußere Phase, die zusätzlich Polyvinylpyrrolidon in einem Gewichtsverhältnis von Gelatine zu Polyvinylpyrrolidon wie 5:1 bis 500:1 insbesondere 5:1 bis 30:1 enthält.
- 25 31. Nanosol nach einem der Ansprüche 25 bis 30, dadurch gekennzeichnet, daß der Arzneistoff eine Löslichkeit in Wasser bei Raumtemperatur von kleiner als 5 g/l, insbesondere kleiner als 1 g/l aufweist.
- 30 32. Nanosol nach einem der Ansprüche 25 bis 31, dadurch gekennzeichnet, daß bei negativ geladenen Arzneistoffpartikeln die Gelatine eine positive Ladung unterhalb einem pH-Wert von 9,5 in wäßriger Lösung aufweist.
- 35

33. Nanosol nach Anspruch 25 bis 31, dadurch gekennzeichnet, daß bei positiv geladenen Arzneistoffpartikeln die Gelatine eine negative Ladung oberhalb einem pH-Wert von 3,5 in wäßriger Lösung aufweist.
- 5 34. Nanosol nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutisch applizierbare Form eine Tablette ist, die den Arzneistoff schnell freisetzt.
- 10 35. Nanosol nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutisch applizierbare Form eine Tablette ist, die den Arzneistoff langsam freisetzt.
- 15 36. Nanosol nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutisch applizierbare Form eine feste, pulverförmige, in Hartgelatine kapseln abgefüllte Nano-dispersion darstellt.
- 20 37. Nanosol nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutisch applizierbare Form eine halbfeste Arzneiform darstellt.
- 25 38. Nanosol nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutisch applizierbare Form eine parenterale Arzneiform darstellt.
- 30 39. Nanosol nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutisch applizierbare Form eine bioadhäsive Arzneiform darstellt.
- 35 40. Akut-Arzneimittel zur Behandlung von Diabetes, enthaltend Glibenclamid neben üblichen pharmazeutischen Trägern und Hilfsstoffen, dadurch gekennzeichnet, daß das Glibenclamid in Form eines pharmazeutisch applizierbaren Nanosols nach einem der Ansprüche 25-39 vorliegt.

41. Akut-Arzneimittel zur Behandlung von rheumatischen und/oder entzündlichen Erkrankungen, enthaltend ein 3-Indolylessigsäurederivat neben üblichen pharmazeutischen Trägern und Hilfsstoffen, dadurch gekennzeichnet, daß das 3-Indolylessigsäurederivat in Form eines pharmazeutisch applizierbaren Nanosols nach einem der Ansprüche 25-39 vorliegt.
42. Arzneimittel nach Anspruch 40 und/oder 41, dadurch gekennzeichnet, daß die Gelatine ein Maximum der Molekulargewichtsverteilung unterhalb von 10^5 D und Bloomwerte von 0 - 240 aufweist.
43. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 40 bis 42, dadurch gekennzeichnet, daß die Gelatine einen Bloomwert von 0 - 170 aufweist.
44. Arzneimittel nach Anspruch 43, dadurch gekennzeichnet, daß die Gelatine einen Peptidanteil von 50 - 90% aufweist.
45. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 40 bis 44, dadurch gekennzeichnet, daß die Gelatine ein Maximum der Molekulargewichtsverteilung im Bereich von 10^4 - $9,5 \times 10^4$ D aufweist.
46. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 40 bis 45, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewichtsverhältnis Gelatine zu Wirkstoff 1:1 bis 200:1 ist.
47. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 40 bis 46, dadurch gekennzeichnet, daß die Arzneiform ein schnell auflösendes Pulver oder Granulat ist.

48. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 40-47, dadurch gekennzeichnet, daß es teilweise als Akutform, teilweise als Retardform vorliegt.
- 5 49. Arzneimittel nach Anspruch 41 und/oder 48, dadurch gekennzeichnet, daß das 3-Indolylessigsäurederivat Indometacin ist.
- 10 50. Arzneimittel nach Anspruch 41 und/oder 48, dadurch gekennzeichnet, daß das 3-Indolylessigsäurederivat Acemetacin ist.
- 15 51. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 40 bis 50, dadurch gekennzeichnet, daß die Gelatine einen Anteil an rechtsdrehenden Aminosäuren unterhalb von 20% aufweist.
- 20 52. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 40 bis 51, dadurch gekennzeichnet, daß die Arzneiform eine Hartgelatine kapsel mit schnell auflösendem Pulver und langsam auflösender Tablette ist.
- 25 53. Verwendung eines pharmazeutisch applizierbaren Nanosols von Glibenclamid und üblichen pharmazeutischen Träger und Hilfsstoffe zur Herstellung eines Antidiabetikums mit Akutwirkung.
- 30 54. Verwendung eines pharmazeutisch applizierbaren Nanosols von Indometacin oder Acemetacin und übliche pharmazeutische Träger und Hilfsstoffe zur Herstellung von Arzneimitteln mit antirheumatischer und/oder antiphlogistischer Akutwirkung.
- 35 55. Verwendung eines pharmazeutisch applizierbaren Nanosols von Indometacin oder Acemetacin und übliche pharmazeutische Träger und Hilfsstoffen zur Herstellung eines An-

tirheumatikums und/oder Antiphlogistikums mit Akut- und Retardwirkung.

56. Verfahren zur Herstellung eines kolloid-dispersen Systems von in Wasser schwerlöslichen anorganischen und/oder organischen Verbindungen, dadurch gekennzeichnet, daß man

a) eine Gelatine, ein Koallagenhydrolysat oder ein Gelatinederivat nach ihrem (seinem) isoelektrischen Punkt (IEP) so auswählt, daß ihr (sein) IEP mit dem Ladungszustand der Partikel der anorganischen und/oder organischen Verbindung so abgestimmt ist, daß die Gelatine, das Kollagenhydrolysat oder das Gelatinederivat bei einem bestimmten pH-Wert mit der ungelösten organischen Verbindung zu Ladungsneutralität führt,

b) die Gelatine, das Kollagenhydrolysat oder das Gelatinederivat in die wäßrige Solform überführt,

c) den pH-Wert in Abhängigkeit von dem IEP der Gelatine auf einen solchen Wert einstellt, daß die sich bildenden Nanopartikel der anorganischen und/oder organischen Verbindung nahezu oder vollständig ladungsneutral stabilisiert werden, und

d) vor oder nach Stufe c) die anorganische und/oder organische Verbindung in dem wäßrigen Gelatinesol löst oder eine Lösung der anorganischen und/oder Verbindung mit dem wäßrigen Gelatinesol vereinigt.

57. Verfahren nach Anspruch 56, dadurch gekennzeichnet, daß man in Stufe d) die gelöste anorganische und/oder organische Verbindung vor der Vereinigung mit dem wäßrigen Gelatinesol kurzzeitig in kolloid-disperse Form von Na-

nopartikel überführt und die so erhaltene Dispersion von Nanopartikeln kontinuierlich mit dem wäßrigen Gelatinesol vereinigt.

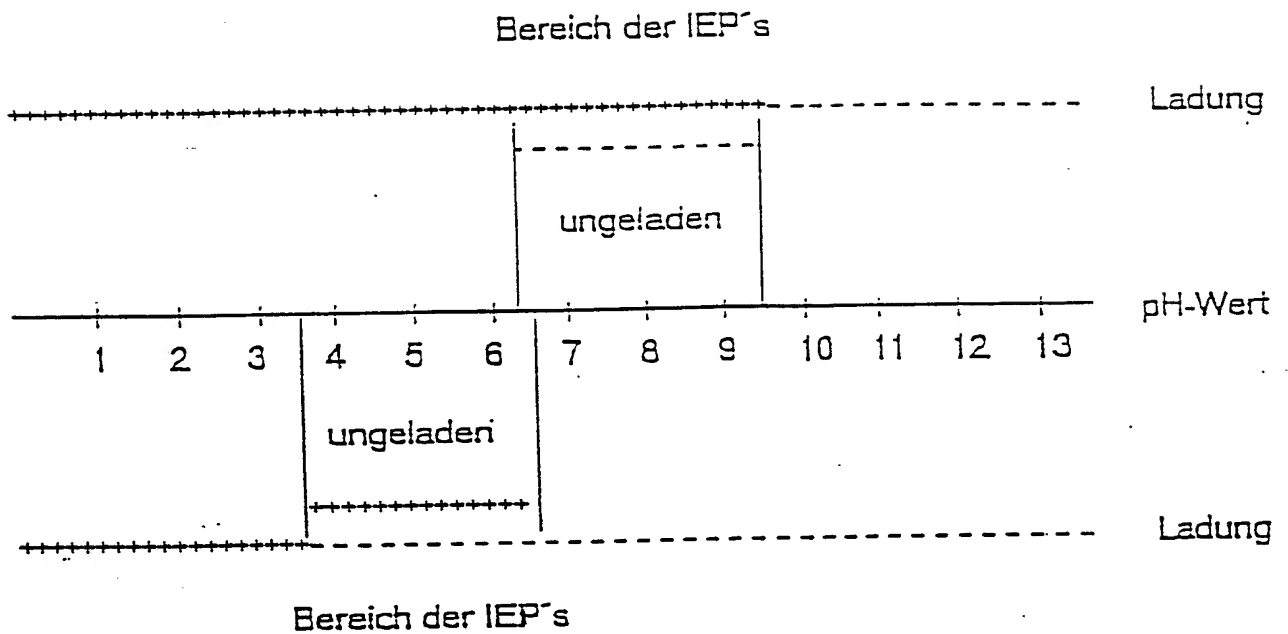
- 5 58. Verfahren nach Anspruch 56 oder 57, dadurch gekennzeichnet, daß man
el) die anorganische und/oder organische Verbindung in Form von Nanopartikeln ausfällt.
- 10 59. Nanosol von in Wasser schwer löslichen anorganischen und/oder organischen Verbindungen oder Gemischen von anorganischen und/oder organischen Verbindungen mit Gelatine, gekennzeichnet durch
- 15 a) eine innere Phase aus der oder den organischen Verbindung(en), die eine Teilchengröße von 10 - 800 nm aufweist (aufweisen) und eine negative oder positive Oberflächenladung besitzt (besitzen),
- 20 b) eine äußere Phase aus Gelatine, einem Kollagenhydrolysat oder einem Gelatinederivat, welche(s) positiv oder negativ geladen ist,
- 25 c) einen annähernd oder vollständig isoionischen Ladungszustand der inneren und äußeren Phase.
- 30 60. Nanosol nach Anspruch 59, dadurch gekennzeichnet, daß die anorganische(n) und/oder organische(n) Verbindung(en) eine Partikelgrößenverteilung unterhalb 400 nm, insbesondere 10 - 100 nm aufweist (aufweisen).
- 35 61. Nanosol nach Anspruch 59 und/oder 60, dadurch gekennzeichnet, daß bei positiv geladenen Teilchen die Gelatine eine negative Ladung oberhalb einem pH-Wert von 3,5 in wäßriger Lösung aufweist.

62. Nanosol nach einem der Ansprüche 59 bis 61, dadurch gekennzeichnet, daß bei negativ geladenen Teilchen die Gelatine eine positive Ladung unterhalb von einem pH-Wert von 9,5 in wäßriger Lösung aufweist.

1/2

Fig. 1

Gelätinetyp A



Gelätinetyp B

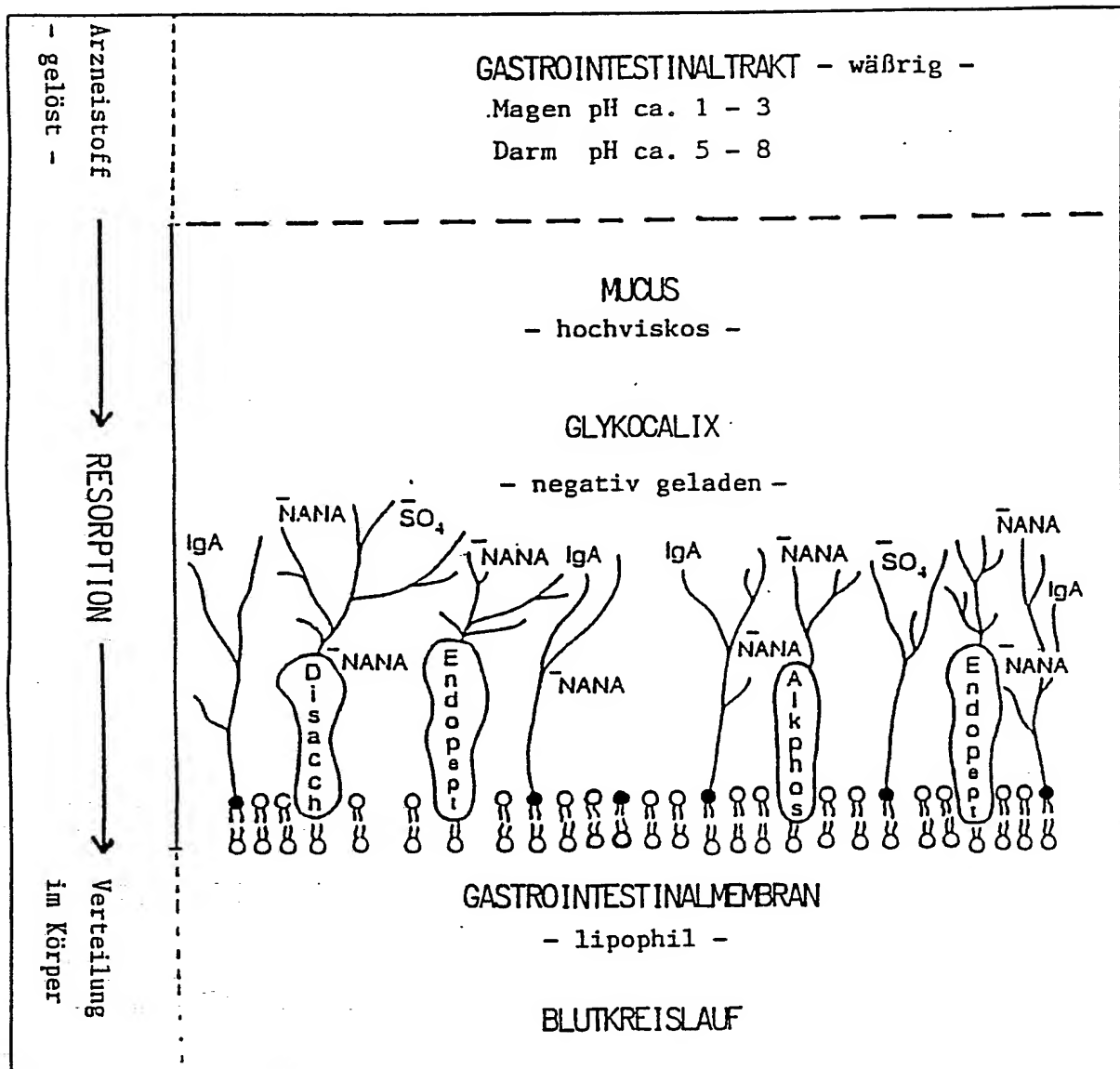
Ladungsverteilungen in den Gelätinetypen A (sauer) und B (alkalisch)

IEP = isoelektrischer Punkt

ERSATZBLATT

2/2

Fig. 2



ERSATZBLATT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/DE 92/01010

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁵ A61K9/51; A61K9/10 A61K47/42
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁵ A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP,A,0 282 020 (NISSHIN CHEMICALS CO LTD) 14 September 1988 see page 3, line 1 - line 14 see page 3, line 23 - line 37 see page 4; example 1 see page 5; examples 2,3 see page 7; example 4 ---	1-3, 25-27
A	EP,A,0 349 428 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE) 3 January 1990 see page 2, column 1, line 3 - line 7 see page 2, column 2, line 44 - line 52 see page 3; examples 1,6 see claims 1,6 --- -/--	1-3, 25-27

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 March 1993 (18.03.93)

Date of mailing of the international search report

6 April 1993 (06.04.93)

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE 92/01010

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>EP,A,0 275 796 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE) 27 July 1988 cited in the application see page 2, column 2, line 43 - page 3, column 1, line 19 see page 3, column 1, line 58 see page 5; example 5 see claims 1,14,15</p>	1,25
A	<p>AU,A,495 261 (PHARMACEUTICAL SOCIETY OF VICTORIA AND P. SPEISER) 17 March 1977 see page 15 - page 17; example 9</p>	1,25
A	<p>FR,A,1 259 081 (HOFFMANN-LA ROCHE) 13 March 1961 see page 3; example 3</p>	1,25
A	<p>FR,A,2 608 427 (SANDOZ S.A.) 24 June 1988 see page 1, paragraph 6 - paragraph 5 see page 3, paragraph 3 - paragraph 4 see page 8, paragraph 5 see page 10, paragraph 2 - paragraph 3 see page 12, paragraph 3 see page 17; example 10 see claims 1,4,8,11</p>	1,25

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

DE 9201010
SA 68081

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

18/03/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-0282020	14-09-88	JP-A- 1203335	16-08-89
		JP-A- 63218618	12-09-88
		US-A- 5080907	14-01-92

EP-A-0349428	03-01-90	FR-A- 2634397	26-01-90
		JP-A- 2149334	07-06-90
		US-A- 5133908	28-07-92

EP-A-0275796	27-07-88	FR-A- 2608988	01-07-88
		CA-A- 1292168	19-11-91
		DE-A- 3777796	30-04-92
		FR-A- 2634397	26-01-90
		JP-A- 63240936	06-10-88
		US-A- 5133908	28-07-92
		US-A- 5118528	02-06-92

AU-A-495261	17-03-77	None	

FR-A-1259081		GB-A- 887901	

FR-A-2608427	24-06-88	AU-B- 606908	21-02-91
		AU-A- 8282887	23-06-88
		BE-A- 1000848	18-04-89
		CH-A- 679451	28-02-92
		DE-A- 3742473	28-07-88
		GB-A, B 2200048	27-07-88
		JP-A- 63165312	08-07-88
		LU-A- 87079	14-07-88
		NL-A- 8702998	18-07-88
		SE-A- 8705043	20-06-88

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
Int.Kl. 5 A61K9/51; A61K9/10; A61K47/42		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.Kl. 5	A61K	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹		
Art. ⁹	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
A	EP,A,0 282 020 (NISSHIN CHEMICALS CO LTD) 14. September 1988 siehe Seite 3, Zeile 1 - Zeile 14 siehe Seite 3, Zeile 23 - Zeile 37 siehe Seite 4; Beispiel 1 siehe Seite 5; Beispiele 2,3 siehe Seite 7; Beispiel 4 ---	1-3, 25-27
A	EP,A,0 349 428 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE) 3. Januar 1990 siehe Seite 2, Spalte 1, Zeile 3 - Zeile 7 siehe Seite 2, Spalte 2, Zeile 44 - Zeile 52 siehe Seite 3; Beispiele 1,6 siehe Ansprüche 1,6 ---	1-3, 25-27
-/-		
<p>⁹ Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen ¹⁰ :</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist</p> <p>"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts	
18. MAERZ 1993	06. 04. 93	
Internationale Recherchenbehörde	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten	
EUROPAISCHES PATENTAMT	BOULOIS D.	

III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)

Art °	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP,A,0 275 796 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE) 27. Juli 1988 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 2, Spalte 2, Zeile 43 - Seite 3, Spalte 1, Zeile 19 siehe Seite 3, Spalte 1, Zeile 58 siehe Seite 5; Beispiel 5 siehe Ansprüche 1,14,15 ---	1,25
A	AU,A,495 261 (PHARMACEUTICAL SOCIETY OF VICTORIA AND P. SPEISER) 17. März 1977 siehe Seite 15 - Seite 17; Beispiel 9 ---	1,25
A	FR,A,1 259 081 (HOFFMANN-LA ROCHE) 13. März 1961 siehe Seite 3; Beispiel 3 ---	1,25
A	FR,A,2 608 427 (SANDOZ S.A.) 24. Juni 1988 siehe Seite 1, Absatz 6 - Absatz 5 siehe Seite 3, Absatz 3 - Absatz 4 siehe Seite 8, Absatz 5 siehe Seite 10, Absatz 2 - Absatz 3 siehe Seite 12, Absatz 3 siehe Seite 17; Beispiel 10 siehe Ansprüche 1,4,8,11 -----	1,25

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.**

DE 9201010
SA 68081

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

18/03/93

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A-0282020	14-09-88	JP-A- 1203335	16-08-89
		JP-A- 63218618	12-09-88
		US-A- 5080907	14-01-92

EP-A-0349428	03-01-90	FR-A- 2634397	26-01-90
		JP-A- 2149334	07-06-90
		US-A- 5133908	28-07-92

EP-A-0275796	27-07-88	FR-A- 2608988	01-07-88
		CA-A- 1292168	19-11-91
		DE-A- 3777796	30-04-92
		FR-A- 2634397	26-01-90
		JP-A- 63240936	06-10-88
		US-A- 5133908	28-07-92
		US-A- 5118528	02-06-92

AU-A-495261	17-03-77	Keine	

FR-A-1259081		GB-A- 887901	

FR-A-2608427	24-06-88	AU-B- 606908	21-02-91
		AU-A- 8282887	23-06-88
		BE-A- 1000848	18-04-89
		CH-A- 679451	28-02-92
		DE-A- 3742473	28-07-88
		GB-A, B 2200048	27-07-88
		JP-A- 63165312	08-07-88
		LU-A- 87079	14-07-88
		NL-A- 8702998	18-07-88
		SE-A- 8705043	20-06-88

EPO FORM P0473